

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038918**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.11.09

(51) Int. Cl. **A61K 39/395** (2006.01)

(21) Номер заявки
201591546

(22) Дата подачи заявки
2014.03.14

(54) ПЕПТИД, СВЯЗЫВАЮЩИЙ РЕЦЕПТОР ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА, МУЛЬТИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ КОМПЛЕКСЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ПЕПТИД И АНТИТЕЛА, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) **61/802,343**

(32) **2013.03.15**

(33) **US**

(43) **2016.06.30**

(86) **PCT/US2014/029077**

(87) **WO 2014/144600 2014.09.18**

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

(56) WO-A2-2012162561

LAFLEUR et al. "Monoclonal antibody therapeutics with up to five specificities Functional enhancement through fusion of target-specific peptides", mAbs, 23 October 2012 (23.10.2012), Vol. 5, Iss. 2, Pgs. 208-218, entire document

US-A1-20120100166

US-A1-20070248994

WO-A2-2002079377

(72) Изобретатель:
**Рошке Виктор, Ляфлёр Дэвид,
Гилберт Дэвид М., Кинер Питер (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) Изобретение в целом относится к пептиду, обладающему способностью связывать рецептор эпидермального фактора роста (EGRF), к комплексам, содержащим антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), отличающийся тем, что указанный MRD содержит пептид согласно настоящему изобретению, предназначенный для связывания антигена указанного антитела и EGRF, и фармацевтическим композициям, содержащим мультиспецифические комплексы согласно настоящему изобретению. Изобретение также в целом относится к способам получения указанных комплексов и композиций и к диагностическому и терапевтическому применению указанных комплексов и композиций.

B1

038918

038918

B1

Уровень техники **Область техники**

Настоящее изобретение в целом относится к пептиду, обладающему способностью связывать рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), к комплексам, содержащим антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), отличающийся тем, что указанный MRD содержит пептид согласно настоящему изобретению, предназначенный для связывания антигена указанного антитела и EGFR, фармацевтической композицией, содержащим мультиспецифические комплексы согласно настоящему изобретению. Настоящее изобретение также в целом относится к способам получения указанных комплексов и композиций и к диагностическому и терапевтическому применению указанных комплексов и композиций.

Предпосылки создания изобретения

В последние годы усилия, направленные на поиск новых лекарственных средств, были в основном сосредоточены на идентификации агентов, модулирующих заранее выбранные индивидуальные мишени. Однако агенты, направленные на индивидуальные мишени, часто демонстрируют ограниченную эффективность и неудовлетворительные профили безопасности и устойчивости как результат малой чувствительности, избыточности, перекрестных взаимодействий, активности компенсаторных сигнальных путей и обратных или противоположно направленных сигнальных путей, связанных с терапевтической мишенью. Соответственно, усилия, направленные на поиск новых лекарственных средств, все чаще становятся направлены на поиск новых многокомпонентных способов терапии.

Разработка биспецифических или мультиспецифических молекул, нацеленных на две или большее количество мишеней одновременно, обеспечивает новое перспективное решение для получения новых системных агентов, нацеленных на несколько мишеней, демонстрирующих улучшенную эффективность и фармакологические свойства по сравнению со стандартными способами монотерапии. Многочисленные попытки разработки мультиспецифических молекул были основаны на иммуноглобулинподобных доменах или субдоменах. Например, биспецифические антитела традиционно получали путем химического связывания двух разных моноклональных антител или путем слияния двух гибридомных клеточных линий с получением гибридной гибридомы. Другие основанные на иммуноглобулинподобных доменах технологии, использовавшиеся для создания мультиспецифических и/или мультивалентных молекул, включают однодоменные антитела (dAb), диатела, тандемные антитела (TandAb), нанотела, антитела BiTE, иммунофармацевтические средства на основе модульных белков малого размера (SMIP), антитела, полученные с помощью технологии DNL, белки Affibody, фиомеры, домены Куница, доменные антитела к альбумину Albu-dab, антитела DART, DVD-IG, антитела Covx, пептитела, антитела на основе одноцепочечных Fv-фрагментов (scFv-Ig), SVD-Ig, dAb-Ig, антитела на основе технологии "выступы-вогпадинах", антитела DuoBody™ и трифункциональные моноклональные антитела (trioAb). Хотя каждая из указанных молекул может связывать одну или большее количество мишеней, с каждой из них связаны проблемы, касающиеся сохранения характерных функций иммуноглобулина (например, времени периода полувыведения, эффекторной функции), получения (например, выхода, чистоты), валентности, одновременного распознавания мишеней и биодоступности.

Другие попытки получения мультиспецифических и мультивалентных молекул были основаны на альтернативных вариантах скаффолдов (каркасных структур) на основе полипептидов VASP, панкреатического полипептида птиц (aPP), тетранектина (на основе CTLD3), аффилина (на основе γ B-кристаллина/убиквитина), ноттингов (knottins), SH3-доменов, PDZ-доменов, тендамистата, трансферрина, домена с анкириновым консенсусным повтором (например, дарпинов (DARPin)), укладках белка липокалина (например, дуокалинов (Duocalin)), фибронектина (см., например, опубликованные заявки на патент США №№ 20030170753 и 20090155275, включенные в настоящий документ посредством ссылки), домена белка А (например, белков Affibody), тиоредоксина. Другие попытки были основаны на альтернативных вариантах скаффолдов на основе соединения или связывания представляющих интерес полипептидов с альбумином (например, ALBUdAb (Domantis/GSK) и ALB-Kunitz (Dyax)), последовательности с неструктурированными повторами из 3 или 6 аминокислот (например, технология PASylation® и технология XTEN®) и последовательности, содержащие домены с эластиноподобными повторами (см., например, заявку на патент США № 61/442106, которая включена в настоящий документ посредством ссылки). К настоящему времени указанные технологии продемонстрировали ограниченный клинический потенциал в качестве надежных платформ для разработки различных мультиспецифических и мультивалентных терапевтических композиций.

Генетическая сложность большинства злокачественных новообразований и других расстройств у человека дает веские основания предполагать, что взаимодействие с одной мишенью или путем, связанным с указанными расстройствами, предположительно не способно обеспечить оптимальный или продолжительный терапевтический эффект. Таким образом, существует значительная потребность в разработке мультиспецифических и мультивалентных терапевтических средств, таких как мультиспецифические антитела, способных влиять на активность нескольких мишеней и/или сигнальных механизмов или оптимизировать терапевтические эффекты лечения, направленного против указанных расстройств.

Краткое описание изобретения

Настоящее изобретение относится к композициям, содержащим мультивалентные, а также мультивалентные и моновалентные мультиспецифические комплексы, содержащие скаффолды, такие как антитела, поддерживающие такие связывающие функциональные группы. Настоящее изобретение основано отчасти на неожиданном открытии, заключающемся в том, что мультиспецифические и мультивалентные связывающие композиции, например, полученные с применением платформы ZYBODY™ (Zyngenia, Inc.; см., например, международную публикацию № WO 2009/088805, которая включена в настоящий документ посредством ссылки), демонстрируют ярко выраженную синергическую биологическую активность по сравнению с комбинациями стандартных монотерапий. Предполагается, что указанная синергическая активность приведет к появлению новых вариантов терапии, направленной на лечение или предотвращение раковых заболеваний, заболеваний или расстройств иммунной системы (например, аутоиммунных заболеваний, таких как ревматоидный артрит и ВЗК), скелетной системы (например, остеопороза), сердечно-сосудистой системы (например, инсульта, заболевания сердца), нервной системы (например, болезни Альцгеймера), инфекционного заболевания (например, ВИЧ) и других заболеваний или расстройств, описанных в настоящем документе или известных из других источников в данной области техники.

Согласно одному варианту реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения терапевтически эффективного количества мультивалентного мультиспецифического MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для трех или большего количества мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для четырех или большего количества мишеней. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для пяти или большего количества мишеней. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или большее количество указанных мишеней расположены на поверхности клетки. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или большее количество указанных мишеней представляют собой растворимые мишени (например, хемокины, цитокины и факторы роста). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает 1, 2, 3, 4 или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе.

Согласно дополнительным вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с раковым заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с 1, 2, 3, 4 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с раковым заболеванием. Согласно дополнительным вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с 1, 2, 3, 4 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с заболеванием или расстройством иммунной системы.

Согласно дополнительным вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом), сердечно-сосудистой системы, нервной системы, или с инфекционным заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с 1, 2, 3, 4, 5 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом), сердечно-сосудистой системы, нервной системы, или с инфекционным заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе. Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для трех или большего количества мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для четырех или большего количества мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для пяти или большего количества мишеней.

Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для трех или большего количества мишеней. Согласно

но дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для четырех или большего количества мишеней. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для пяти или большего количества мишеней. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или большее количество указанных мишеней связаны с клеточной мембраной. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или большее количество указанных мишеней представляют собой растворимые мишени (например, хемокины, цитокины и факторы роста). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает 1, 2, 3, 4 или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе.

Согласно дополнительным вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с раковым заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с 1, 2, 3, 4 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с раковым заболеванием. Согласно дополнительным вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с 1, 2, 3, 4 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает (1) мишень на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолеассоциированный антиген на опухолевой клетке, иммунной клетке, пораженной заболеванием клетке или инфекционном агенте) и (2) мишень на эффекторной клетке. В соответствии с одним вариантом такое связывание одной или большего количества мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией направляет иммунный ответ на клетку, ткань, инфекционный агент или в другую представляющую интерес локализацию у пациента. Согласно некоторым вариантам реализации указанная эффекторная клетка представляет собой лейкоцит, такой как Т-клетка или естественная клетка киллер. Согласно другим вариантам реализации указанная эффекторная клетка представляет собой вспомогательную клетку, такую как миелоидная клетка или дендритная клетка.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает (1) мишень на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолеассоциированный антиген на опухолевой клетке, иммунной клетке, пораженной заболеванием клетке или инфекционном агенте) и (2) мишень на лейкоците, такую как молекула Т-клеточного рецептора. В соответствии с одним вариантом связывание одной или большего количества мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией направляет иммунный ответ на инфекционный агент, клетку, ткань или другую представляющую интерес локализацию у пациента. Например, согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень на поверхности Т-клетки. Согласно конкретным вариантам реализации указанная композиция связывает CD3-мишень, выбранную из CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD3-гамма, CD3-зета, Т-клеточного рецептора альфа (TCR- α), Т-клеточного рецептора бета (TCR- β) и мултимеров белков в комплексе CD3 (TCR). Согласно конкретным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD2. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, экспрессируемую на естественной клетке киллере. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, выбранную из CD2, CD56 и CD161.

Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, экспрессируемую на вспомогательной (например, миелоидной) клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, выбранную из CD64 (т.е. рецептор Fc- γ), MHC класса 2 и его инвариантной цепи, Toll-подобного рецептора 1 (TLR1), Toll-подобного рецептора 2 (TLR2), TLR4, TLR5 и TLR6. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. является моновалентной). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3), и несколько сайтов связывания мишени (т.е. является мультивалентной) на представляющей интерес клетке или ткани (на-

пример, опухолеассоциированного антигена на опухолевой клетке, например мишени, описанной в настоящем документе). Согласно другим вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция содержит единственные сайты связывания двух разных мишеней (т.е. моновалентно связывает более чем одну другую мишень). Согласно конкретным вариантам реализации указанная представляющая интерес клетка или ткань представляет собой раковую клетку, иммунную клетку, пораженную заболеванием клетку или инфекционный агент.

Согласно некоторым вариантам реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит единственный сайт связывания CD3. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания CD3 и несколько сайтов связывания для 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней (например, опухолевого антигена или другой мишени, раскрытой в настоящем документе). Согласно другим вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания CD3 и единственный сайт связывания другой мишени (т.е. моновалентно связывает CD3 и другую мишень). Согласно другим вариантам реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания CD3-эпсилон. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания CD3-эпсилон и несколько сайтов связывания для 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней (например, опухолевого антигена или другой мишени, раскрытой в настоящем документе). Согласно другим вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания CD3-эпсилон и единственный сайт связывания другой мишени (т.е. моновалентно связывает CD3-эпсилон и другую мишень). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания мишени на раковой клетке, выбранной из рака молочной железы, рака толстой и прямой кишки, рака эндометрия, рака почки (почечно-клеточного рака), рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, лейкоза, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака поджелудочной железы и рака щитовидной железы. Согласно другим вариантам реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, которая содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывающей мишень) нуждающемуся в этом пациенту. Согласно некоторым вариантам реализации указанная вводимая мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная вводимая мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3), и несколько сайтов связывания (т.е. способна к мультивалентному связыванию) мишени, расположенной на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолевого антигена на опухолевой клетке). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците (например, CD3) и единственный сайт связывания другой мишени. Согласно некоторым вариантам реализации представляющая интерес клетка представляет собой опухолевую клетку ракового заболевания, выбранного из рака молочной железы, рака толстой и прямой кишки, рака эндометрия, рака почки (почечно-клеточного рака), рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, лейкоза, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака поджелудочной железы и рака щитовидной железы. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания мишени на неврологической опухоли. Согласно конкретным вариантам реализации указанная неврологическая опухоль представляет собой глиому (например, глиобластому, мультиформную глиобластому (GBM) и астроцитому), эпендимому, олигодендроглиому, нейрофибром, саркому, медуллобластому, примитивную нейроэктодермальную опухоль, аденому гипофиза, нейробластому или рак мозговых оболочек (например, менингиому, менингосаркому и глиоматоз). Согласно другим вариантам реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), которая содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывающей мишень) и несколько сайтов связывания для 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственные сайты связывания двух разных мишеней. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания мишени на раковой клетке, выбранной из рака молочной железы, рака толстой и прямой кишки, рака эндометрия, рака почки (почечно-клеточного рака), рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, лейкоза, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака поджелудочной железы и рака щитовидной железы. Согласно другим вариантам реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения нуж-

дающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), которая содержит единственный сайт связывания CD3 (например, CD3-эпсилон), моновалентно связывающий CD3, и несколько сайтов связывания для 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней, расположенных на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолевого антигена на опухолевой клетке). Согласно некоторым вариантам реализации указанная вводимая мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания CD3 (например, CD3-эпсилон) и единственный сайт связывания другой мишени, а также содержит несколько сайтов связывания мишени, расположенных на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолевого антигена на опухолевой клетке). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания мишени на раковой клетке, выбранной из рака молочной железы, рака толстой и прямой кишки, рака эндометрия, рака почки (почечно-клеточного рака), рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, лейкоза, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака поджелудочной железы и рака щитовидной железы. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывает мишень) на клеточной поверхности, требующей мультимеризации для передачи сигнала. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания рецептора фактора роста. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания представителя суперсемейства рецепторов ФНО. Согласно другим вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция дополнительно содержит единственный сайт связывания другой мишени (т.е. моновалентно связывает более чем одну другую мишень).

Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает мишень, связанную с опосредованной эндогенным рецептором гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) транспортной системой и способную проникать на мозговую сторону ГЭБ (в спинномозговую жидкость). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит два или большее количество сайтов связывания целевого антигена, связанного с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени, связанной с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой (например, опосредованными рецептором инсулина, рецептором трансферрина, рецептором лептина, рецептором липопротеинов и рецептором ИФР транспортными системами). Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция дополнительно связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, расположенных с мозговой стороны ГЭБ. Согласно конкретным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связанных с неврологическим заболеванием или расстройством. Согласно еще одному варианту реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения рака головного мозга, метастатического рака головного мозга или первичного рака головного мозга. Согласно дополнительному варианту реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения повреждения головного мозга, инсульта, повреждения спинного мозга или болевого синдрома.

Согласно другим вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащее антитело), связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом), сердечно-сосудистой системы, нервной системы или с инфекционным заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с 1, 2, 3, 4, 5 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с одним или большим количеством перечисленных выше заболеваний или расстройств. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе.

Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция представляет собой ZYBODY™ (называемое в настоящем документе "MRD-содержащим антителом" или т.п.). Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит сайты связывания трех или большего количества мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит 2 сайта связывания четырех или большего количества мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит 2 сайта связывания пяти или большего количества мишеней. Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспеци-

фическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит 2 сайта связывания трех или большего количества мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит 2 сайта связывания четырех или большего количества мишеней. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит 2 сайта связывания пяти или большего количества мишеней. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или большее количество указанных мишеней расположены на поверхности клетки. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или большее количество указанных мишеней представляют собой растворимые мишени (например, хемокины, цитокины и факторы роста). Согласно другим вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе. Согласно другим вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащим антителом), связаны с раковым заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые MRD-содержащим антителом, связаны с 1, 2, 3, 4 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с раковым заболеванием.

Согласно другим вариантам реализации мишень, связываемая указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащим антителом), связана с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанным MRD-содержащим антителом, связаны с 1, 2, 3, 4, 5 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с заболеванием или расстройством иммунной системы.

Согласно другим вариантам реализации мишень, связываемая указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащее антитело), связана с заболеванием или расстройством скелетной системы, сердечно-сосудистой системы, нервной системы или с инфекционным заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации мишень, связываемая указанным MRD-содержащим антителом, связана с 1, 2, 3, 4 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с одним или большим количеством перечисленных выше заболеваний или расстройств. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает 1, 2, 3, 4 или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции, предложенные в настоящем изобретении (например, MRD-содержащие антитела), обеспечивают возможность избирательного нацеливания на несколько мишеней (например, рецепторов и связанных с микроокружением мишеней), которым свойственны, например, разные перекрывающиеся или избыточные механизмы действия, связанные с этиологией или патофизиологией заболевания или расстройства.

Согласно другим вариантам реализации настоящее изобретение включает мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), ковалентно или иным образом связанную с цитотоксическим агентом. Согласно некоторым вариантам реализации указанный цитотоксический агент ковалентно связан с MRD-содержащим антителом посредством линкера. Согласно некоторым вариантам реализации указанный цитотоксический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибирующий рост агент, токсин (например, ферментативно активный токсин бактериального, грибного, растительного или животного происхождения или его фрагменты), радиоактивный изотоп (т.е. радиоконъюгат) или пролекарство. Композиции, предложенные в настоящем изобретении, необязательно, связаны с цитотоксическим агентом посредством линкера. Согласно конкретным вариантам реализации линкер, соединяющий мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию и цитотоксический агент, может быть расщеплен протеазой. Согласно конкретным вариантам реализации линкер, соединяющий мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию и цитотоксический агент, может быть расщеплен при низких значениях pH или в восстанавливающих условиях. Способы применения составов с композициями, предложенными в настоящем изобретении, и цитотоксическими агентами (например, конъюгатов MRD-содержащего антитела с лекарственными средствами) также охвачены настоящим изобретением.

Согласно другим вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции ковалентно или иным образом связаны с цитотоксическим агентом, выбранным, например, из токсина, энтеротоксина, нейротоксина, лейкоцидина или гемолизина, химиотерапевтического агента, лекарственного вещества (например, химиотерапевтического агента или пролекарства), антибиотика, радиоактивного изотопа, хелатного лиганда (например, DOTA, DOTP, DOTMA, DTPA и TETA) и нуклеолитического фермента. Согласно конкретным вариантам реализации указанный цитотоксический агент выбран из ауристина и долостатина, MMAE, MMAF и производного майтансина (например, DM1 (N(2')-деацетил-N(2')-(3-меркапто-1-оксопропил)майтансина), DM3 (N(2')-деацетил-N2-(4-меркапто-1-оксопентил)майтансина) и DM4 (N(2')-деацетил-N2-(4-меркапто-4-метил-1-оксопентил)майтансина). Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и мультиспецифическая

композиция ковалентно или иным образом связана с цитостатическим агентом. Согласно другим вариантам реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию, предложенную в настоящем изобретении (например, MRD-содержащее антитело), вводят в комбинации с многоцелевым терапевтическим средством. Согласно одному варианту реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят в комбинации с многоцелевым ингибитором протеинкиназы. Согласно еще одному варианту реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят в комбинации с ингибитором NFκB. Согласно дополнительному варианту реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят в комбинации с ингибитором гистондеацетилазы (HDAC). Согласно дополнительному варианту реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят в комбинации с ингибитором HSP70 или HSP90. Согласно дополнительному варианту реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят в комбинации с химиотерапией.

Согласно некоторым вариантам реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию, предложенную в настоящем изобретении (например, MRD-содержащее антитело), вводят в комбинации с моноспецифическим терапевтическим средством (например, моноклональным антителом). Согласно некоторым вариантам реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция, предложенная в настоящем изобретении, представляет собой полноразмерное антитело, содержащее по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD). Согласно некоторым вариантам реализации указанное полноразмерное антитело содержит несколько доменов MRD. Согласно другим вариантам реализации указанное полноразмерное антитело содержит MRD более чем одного типа (т.е. несколько MRD с одинаковой или разной специфичностью). Также в настоящем изобретении реализованы варианты и производные таких комплексов с антителами.

MRD в MRD-содержащих антителах могут быть функционально связаны с указанными антителами в любой локализации на указанном антителе (например, на аминоконце тяжелой цепи или легкой цепи или карбоксильном конце тяжелой цепи или легкой цепи), могут быть присоединены к одному или к разным концам и, необязательно, функционально связаны друг с другом или с антителом посредством линкера.

Антитела в MRD-содержащих антителах могут представлять собой любую молекулу иммуноглобулина, которая связывается с антигеном, и могут относиться к любому типу, классу или подклассу. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело гуманизировано или представляет собой антитело человека. Согласно другим вариантам реализации указанные антитела также содержат модификации, не препятствующие их способности связывать антиген. Согласно конкретным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) содержат модификации, усиливающие АЗКЦ, уменьшающие АЗКЦ, усиливающие КЗЦ или уменьшающие КЗЦ, увеличивающие период полувыведения антитела или уменьшающие период полувыведения антитела по сравнению с антителом без указанной модификации.

Антитела в мультивалентных и мультиспецифических композициях (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению могут представлять собой любое антитело, которое связывается с мишенью, имеющей терапевтическое или диагностическое значение. Согласно предпочтительным вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывается с подтвержденной мишенью. Согласно некоторым вариантам реализации антитела, соответствующие указанным MRD-содержащим антителам, проходят клинические испытания для одобрения регуляторными органами. Согласно некоторым вариантам реализации антитела, соответствующие указанным MRD-содержащим антителам, имеются в продаже. Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с антигеном клеточной поверхности. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с ангиогенным фактором. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело связывается с ангиогенным рецептором. Согласно некоторым вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывается с мишенью, выбранной из рЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, CD20, рецептора инсулиноподобного фактора роста-1, ФРЭС, р-ФРЭС и простатического специфического мембранного антигена. Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывается с ФРЭС, рФРЭС-1, рЭФР, ErbB2, рецептором ИФР-1 (IGF-IR), cMET, рецептором ФРФ-1 (рФРФ-1), рецептором ФРФ-2 (рФРФ-2) и CD20.

Согласно одному варианту реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывается с рЭФР. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой эрбитукс (Erbbitux®), нимотузумаб или залутумумаб (например, от Genmab). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело эрбитукс (Erbbitux®), или конкурентно ингибирует связывание антитела эрбитукс (Erbbitux®) с рЭФР. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело эрбитукс (Erbbitux®). Согласно одному конкретному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело эрбитукс (Erbbitux®), нимотузумаб, залутумумаб (например, от Genmab). Согласно еще одному конкретному варианту реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или

MRD-содержащее антитело конкурентно ингибирует связывание антитела эрбитукс (Erbbitux®), нимотузумаб, залутумумаб с рЭФР.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рЭФР и мишень, выбранную из ФРГ, CD64, содержащего CUB-домен белка 1 (CDCP1), RON, cMET, ErbB2, ErbB3, рецептора инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1), плацентарного фактора роста (ПФР), молекулы RGMa, α-рецептора ТцФР (PDGFRa), β-рецептора ТцФР (PDGFRb), рецептора ФРЭС-1, рецептора ФРЭС-2, рецептора 10A суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNFRSF10A, DR4), TNFRSF10B (DR5), TNFRSF21 (DR6), ИФР-1,2, ИФР-2, CD3, CD4 и белок D группы естественных киллеров 2 (NKG2D). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащие антитела) связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рЭФР. Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой нимотузумаб, залутумумаб. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой эрбитукс (Erbbitux®). Согласно конкретному варианту реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывается с ErbB2. Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело Герцептин (Herceptin®) (трастузумаб) или конкурентно ингибирует связывание антитела Герцептин® (трастузумаба) с ErbB2. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело связывается с ФРЭС. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело Авастин® (AVASTEST®, бевацизумаб), или конкурентно ингибирует антитело Авастин®. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело Авастин®.

Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело связывается с мишенью, которая связана с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с ФНО. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело Хумира® (HUMIRA®, адалимумаб) или конкурентно ингибирует антитело Хумира®. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело Хумира®. Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с ФНО. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и Симпони (SIMPONI™, голимумаб) антитело или конкурентно ингибирует антитело Симпони™. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело Симпони™.

Согласно некоторым вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывается с мишенью, которая связана с заболеванием или расстройством системы обмена веществ, сердечно-сосудистой, скелетно-мышечной, нервной или скелетной системы. Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывается с мишенью, которая связана с дрожжевой, грибной, вирусной или бактериальной инфекцией или заболеванием. Настоящее изобретение также охватывает MRD, содержащие MRD композиции (например, антитела и/или другие композиции), полинуклеотиды, кодирующие домены MRD, способы получения MRD и способы применения MRD, предложенные в настоящем изобретении. Согласно одному варианту реализации длина MRD составляет приблизительно 2-150 аминокислот. Согласно еще одному варианту реализации длина MRD составляет приблизительно 2-60 аминокислот. MRD могут быть присоединены к антителу или другим MRD прямо или через линкер. MRD могут представлять собой любую связывающую мишень пептид. Согласно некоторым вариантам реализации мишень MRD представляет собой растворимый фактор. Согласно другим вариантам реализации мишень MRD представляет собой трансмембранный белок, такой как рецептор клеточной поверхности. Согласно еще одному варианту реализации мишень MRD представляет собой клеточный антиген. Согласно конкретному варианту реализации мишень MRD представляет собой CD20.

Согласно еще одному варианту реализации мишень MRD представляет собой интегрин. Согласно одному аспекту пептидная последовательность нацеленного на интегрин MRD представляет собой YCRGDCT (SEQ ID NO: 3). Согласно другому аспекту пептидная последовательность нацеленного на интегрин MRD представляет собой PCRGDCL (SEQ ID NO: 4). Согласно еще одному аспекту пептидная последовательность нацеленного на интегрин MRD представляет собой TCRGDCY (SEQ ID NO: 5). Согласно другому аспекту пептидная последовательность нацеленного на интегрин MRD представляет собой LCRGDCE (SEQ ID NO: 6). Согласно дополнительному варианту реализации мишень MRD представляет собой ангиогенный цитокин. Согласно одному аспекту пептидная последовательность нацеленного на (т.е. связывающего) ангиогенный цитокин MRD представляет собой

MGAQTNFMPPDDLEQRLYEQFILQQGLE (SEQ ID NO:7).

Согласно одному варианту реализации мишень MRD представляет собой ErbB2. Согласно еще одному варианту реализации мишень, с которой связывается MRD, представляет собой ErbB3. Согласно дополнительному варианту реализации мишень, с которой связывается MRD, представляет собой опухо-

леассоциированный поверхностный антиген или молекулу адгезии эпителиальных клеток (Eр-CAM). Согласно одному варианту реализации мишень, с которой связывается MRD представляет собой ФРЭС. Согласно одному аспекту пептидная последовательность нацеленного на ФРЭС MRD представляет собой

VEPNCDIHVMWEWECFERL (SEQ ID NO:13).

Согласно одному варианту реализации мишень, с которой связывается MRD, представляет собой рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Иллюстративный пример нацеленного на рИФР-1 MRD включает, например, пептидную последовательность, имеющую формулу

NFYQCIDLLMAYPAEKSRGQWQECRTGG (SEQ ID NO:37);

Согласно одному варианту реализации мишень MRD представляет собой опухолевый антиген. Под "опухолевым антигеном" в настоящем документе могут подразумеваться как антигены (в том числе мутации), экспрессируемые исключительно на опухолевых клетках (т.е. опухолеспецифические антигены), так и антигены, экспрессируемые на опухолевых клетках и нормальных клетках (например, антигены, сверхэкспрессируемые на опухолевых клетках). Согласно одному варианту реализации мишень MRD представляет собой рецептор эпидермального фактора роста (рЭФР). Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения мишень MRD представляет собой ангиогенный фактор. Согласно дополнительному варианту реализации мишень MRD представляет собой ангиогенный рецептор. Согласно предпочтительному варианту реализации, настоящее изобретение относится к пептиду, который обладает способностью связывать рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), при этом указанный пептид содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 3109, полинуклеотиду, кодирующему указанный пептид, соответствующему экспрессионному вектору, а также клетке-хозяину для экспрессии пептида согласно настоящему изобретению. Также предложен комплекс, содержащий антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), при этом указанный MRD содержит пептид с последовательностью аминокислот SEQ ID NO: 3109 и способен связывать EGFR, а указанный комплекс также связывает мишень указанного антитела. Согласно одному варианту реализации мишень указанного антитела представляет собой EGFR, а антитело может представлять собой цетуксимаб. В некоторых вариантах реализации комплекс согласно настоящему изобретению содержит дополнительный MRD, причём указанный дополнительный MRD связывает ErbB3. В рамках настоящего изобретения также предложено применение комплекса согласно настоящему изобретению для ингибирования ангиогенеза у пациента и/или лечения рака и соответствующие фармацевтические композиции. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения применение комплекса согласно настоящему изобретению включает ингибирование ангиогенеза дополнительно включает введение ингибитора протеин киназы, при этом в некоторых случаях, указанный ингибитор протеин киназы ингибирует мишень MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения киназа выбран из группы, состоящей из иматиниба, гефитиниба, вандетаниба, эрлотиниба, сунитиниба, лапатаниба и сорафениба, или указанный ингибитор протеин киназы выбран из группы, состоящей из лестауртиниба, тофацитиниба, руксолитиниба, SB1518, CYT387, LY3009104, TG101348, фостаматиниба, BAY 61-3606 и сунитиниба. Кроме того, раскрыт способ ингибирования роста клетки *in vitro*, который включает приведение указанной клетки в контакт с комплексом согласно настоящему изобретению.

Согласно еще одному варианту реализации MRD представляет собой сосудистый хоминг-пептид.

Согласно одному варианту реализации мишень MRD представляет собой фактор роста нервов.

Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело и/или MRD связывается с рЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, CD20, рецептором инсулиноподобного фактора роста-1 или простатическим специфическим мембранным антигеном.

Настоящее изобретение также относится к выделенному полинуклеотиду, содержащему последовательность нуклеотидов, кодирующую MRD-содержащее антитело. Согласно одному аспекту вектор содержит последовательность полинуклеотидов, кодирующую MRD-содержащее антитело. Согласно другому аспекту последовательность полинуклеотидов, кодирующая MRD-содержащее антитело, функционально соединена с регуляторной последовательностью, которая контролирует экспрессию на указанном полинуклеотиде. Согласно дополнительному аспекту клетка-хозяин содержит последовательность полинуклеотидов, кодирующую MRD-содержащее антитело.

Также предложены способы получения мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), а также применение указанных гибридов MRD-антител в диагностических и терапевтических целях. Настоящее изобретение также относится к способам разработки и получения мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) с полноразмерным антителом, содержащим MRD. Согласно одному аспекту указанный MRD происходит из библиотеки, полученной методом фагового дисплея. Согласно другому аспекту указанный MRD происходит из природных лигандов. Согласно другому аспекту указанный MRD получен с помощью технологии дрожжевого дисплея или РНК-дисплея.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения или предотвращения заболевания или расстройства у нуждающегося в этом субъекта (пациента), включающий введение антитела, содержащего MRD, указанному субъекту (пациенту). Согласно одному аспекту указанное заболевание представляет

собой раковое заболевание. Согласно другому аспекту нежелательный ангиогенез ингибирован. Согласно другому аспекту ангиогенез модулирован. Согласно еще одному аспекту рост опухоли ингибирован.

Согласно некоторым вариантам реализации предложены способы лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) нуждающемуся в этом пациенту. Согласно некоторым вариантам реализации указанное заболевание, расстройство или повреждение представляет собой раковое заболевание. Согласно другим вариантам реализации указанное заболевание, расстройство или повреждение представляет собой расстройство иммунной системы. Согласно одному варианту реализации указанное расстройство иммунной системы представляет собой воспаление. Согласно еще одному варианту реализации указанное расстройство иммунной системы представляет собой аутоиммунное заболевание. Согласно дополнительному варианту реализации указанное расстройство иммунной системы выбрано из группы, состоящей из ревматоидного артрита, болезни Крона, системной красной волчанки, воспалительного заболевания кишечника, псориаза, диабета, язвенного колита и рассеянного склероза. Согласно одному варианту реализации указанное заболевание, расстройство или повреждение представляет собой заболевание обмена веществ. Согласно еще одному варианту реализации указанное заболевание, расстройство или повреждение представляет собой инфекционное заболевание. Согласно конкретным вариантам реализации указанное инфекционное заболевание представляет собой инфекцию вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) или СПИД, ботулизм, сибирскую язву или *Clostridium difficile*. Согласно другим вариантам реализации указанное заболевание, расстройство или повреждение является неврологическим. Согласно конкретному варианту реализации указанное неврологическое заболевание, расстройство или повреждение представляет собой боль. Согласно более конкретному варианту реализации указанная боль представляет собой острую боль или хроническую боль.

Согласно еще одному варианту реализации предложен способ лечения или предотвращения, включающий введение дополнительного терапевтического агента наряду с антителом, содержащим MRD. Согласно другим вариантам реализации указанные способы лечения или предотвращения включают введение антитела, содержащего MRD более чем одного типа.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 приведено схематическое изображение разных конструкций мультиспецифических и мультивалентных молекул. Домены MRD изображены в виде треугольников, кружков, ромбов и квадратов.

На фиг. 2A показано типичное пептитело в форме С-концевого гибрида с тяжелой цепью Fc.

На фиг. 2B показано MRD-содержащее антитело с С-концевым гибридом MRD с легкой цепью указанного антитела.

На фиг. 2C показано MRD-содержащее антитело с N-концевым гибридом MRD с легкой цепью указанного антитела.

На фиг. 2D показано MRD-содержащее антитело с уникальными пептидами MRD, соединенными с каждым концом указанного антитела.

На фиг. 3 представлены результаты твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), в которых интегрин и Ang2 связывались антителом против интегрина (JC7U), соединенным с нацеленным на Ang2 MRD (2×Con4).

На фиг. 4 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором интегрин и Ang2 связывались антителом против интегрина (JC7U), соединенным с нацеленным на Ang2 MRD (2×Con4).

На фиг. 5 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором антитело против ErbB2 соединяли с MRD, нацеленным на Ang2.

На фиг. 6 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на Ang2 MRD соединяли со связывающим рецептор фактора роста гепатоцитов (сMET) антителом.

На фиг. 7 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на интегрин MRD соединяли со связывающим ErbB2 антителом.

На фиг. 8 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на интегрин MRD соединяли со связывающим рецептор фактора роста гепатоцитов антителом.

На фиг. 9 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD соединяли со связывающим ErbB2 антителом.

На фиг. 10 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на ФРЭС MRD соединяли со связывающим ErbB2 антителом.

На фиг. 11 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на интегрин MRD соединяли с каталитическим антителом.

На фиг. 12 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на Ang2 MRD соединяли с каталитическим антителом.

На фиг. 13 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на интегрин MRD и нацеленный на Ang2 MRD соединяли со связывающим ErbB2 антителом.

На фиг. 14 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на интегрин MRD соединяли со связывающим ErbB2 антителом.

На фиг. 15 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором связывающий интегрин, Ang2 или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD соединяли со связывающим ErbB2 или рецептор фактора роста гепатоцитов антителом коротким линкерным пептидом.

На фиг. 16 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором связывающий интегрин, Ang2 или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD соединяли со связывающим ErbB2 или рецептор фактора роста гепатоцитов антителом длинным линкерным пептидом.

На фиг. 17A приведены кривые зависимости "доза-эффект" для гибридов MRD и связывающего мальтозу белка (MBP), анализируемых на прямое связывание с Ang2.

На фиг. 17B представлены протестированные гибридные белки MRD-MBP, последовательность аминокислот MRD и значения EC50 (вычисленные с использованием четырехпараметрической аппроксимации). Последовательность мотива MXD в MRD-компонентах гибридов MRD-MBP выделена подчеркиванием, а мутированные остатки выделены жирным начертанием и курсивом.

На фиг. 18A представлены результаты анализа на прямое связывание MRD антитела Zyboby на основе Герцептина® (т.е. MRD, содержащего последовательности антитела Герцептин®) и антитела Герцептин® с Her2 (ErbB2) Fc в присутствии биотинилированного Ang2. Связывание детектировали с применением конъюгированного с HRP моноклонального антитела против цепи каппа человека.

На фиг. 18B представлены результаты анализа на прямое связывание антитела Zyboby на основе Герцептина® (т.е. MRD, содержащего последовательности антитела Герцептин®) и антитела Герцептин® с Her2 Fc в присутствии биотинилированного Ang2. Связывание детектировали с применением конъюгированного с пероксидазой хрена (HRP) стрептавидина.

На фиг. 19A представлены результаты анализа на прямое связывание антител с доменами MRD и антитела Авастин® с ФРЭС в присутствии биотинилированного Ang2. Связывание детектировали с применением конъюгированного с HRP моноклонального антитела против цепи каппа человека.

На фиг. 19B представлены результаты анализа на прямое связывание антител с доменами MRD и антитела Авастин® с ФРЭС в присутствии биотинилированного Ang2. Связывание детектировали с применением конъюгированного с HRP стрептавидина.

На фиг. 20A представлены результаты анализа с применением проточной цитометрии, показывающего, что антитела с доменами MRD одновременно связывают Her2 и Ang2 на клетках BT-474 рака молочной железы.

На фиг. 20B показано связывание антител с доменами MRD с Her2 на клетках BT-474 рака молочной железы.

На фиг. 21 представлены результаты анализа ИФА ELISA, демонстрирующего ингибирующий эффект антител с доменами MRD на связывание TIE-2 с иммобилизованных на планшете Ang2.

На фиг. 22 представлены результаты анализа конкурентного связывания, демонстрирующего ингибирование связывания биотинилированного антитела антителом-MRD и немеченым антителом.

На фиг. 23 представлены результаты анализа конкурентного связывания, который иллюстрирует ингибирование связывания меченого антитела с клетками BT-474 антителами с доменами MRD и немеченым антителом.

На фиг. 24A приведены аппроксимированные кривые "доза-ответ", иллюстрирующие ингибирование пролиферации клеток BT-474 Герцептином® с MRD Im32 (SEQ ID NO: 8), соединенным с тяжелой цепью, и Герцептином®.

На фиг. 24B приведены аппроксимированные кривые "доза-ответ", иллюстрирующие ингибирование пролиферации клеток BT-474 Герцептином® с MRD Im32, соединенным с легкой цепью, и Герцептином®.

На фиг. 24C приведены аппроксимированные кривые "доза-ответ", иллюстрирующие ингибирование пролиферации клеток BT-474 Герцептином® с MRD 2xcon4, соединенным с тяжелой цепью, и Герцептином®.

На фиг. 25A представлены результаты анализа цитотоксичности, иллюстрирующие опосредованный АЗКЦ киллинг клеток BT-474 Герцептином® с MRD Im32, соединенным с тяжелой цепью, Герцептином® с MRD Im32, соединенным с легкой цепью, и Герцептином®.

На фиг. 25B представлены результаты анализа цитотоксичности, иллюстрирующие опосредованный АЗКЦ киллинг клеток BT-474 Герцептином® с MRD 2xcon4, соединенным с тяжелой цепью, и Герцептином®.

На фиг. 26A показано ингибирование пролиферации ЭКПВЧ Авастином® с MRD Im32, соединенным с тяжелой цепью, и Авастином®, с использованием клеток ЭКПВЧ, полученных от GlucoTech (Гейтерсберг, Мэриленд).

На фиг. 26B показано ингибирование пролиферации ЭКПВЧ Авастином® с MRD Im32, соединенным с тяжелой цепью, и Авастином®, с использованием клеток ЭКПВЧ, полученных от Lonza.

На фиг. 27 показан эффект ритуксимаба (Ритуксимаб®), Герцептина® и MRD-содержащего антитела на объем опухоли *in vivo*.

На фиг. 28 показана повышенная эффективность содержащих MRD антител для фосфорилирования рецепторов и активации АКТ по сравнению с эффектом антитела в комбинации с MRD.

На фиг. 29А показана повышенная эффективность биспецифического MRD-содержащего антитела на пролиферацию клеток по сравнению с эффектом антитела или антитела в комбинации с MRD.

На фиг. 29В показана повышенная эффективность пентаспецифического MRD-содержащего антитела на пролиферацию клеток по сравнению с эффектом антитела или антитела в комбинации с MRD.

На фиг. 30 показана повышенная эффективность в модели артрита антитела Хумира, содержащего Ang2-связывающий MRD, по сравнению с Хумирой.

На фиг. 31 показано ингибирование ЭФР-индуцированной сигнализации в клетках SK-BR3 антителами Zyboby.

На фиг. 32 показано ингибирование херегулин-индуцированной сигнализации в клетках SK-BR3 антителами Zyboby.

На фиг. 33 показано ингибирование ЭФР- и херегулин-индуцированной сигнализации в клетках SK-BR3 антителами Zyboby.

На фиг. 34 приведена столбчатая диаграмма (А) и результаты проточной цитометрии (В), отражающие понижающую регуляцию экспрессии рЭФР на клетках SK-BR3 антителами Zyboby.

На фиг. 35 показана понижающая регуляция рЭФР в клетках SKBR3 антителами Zyboby.

На фиг. 36 показаны цитотоксические эффекты MRD-содержащих антител, проявляющих разные валентности агонизирующих DR5 MRD на трех разных скаффолдах на основе моноклональных антител (mAb) с применением анализа жизнеспособности клеток.

На фиг. 36А показано, что антитело Zyboby со скаффолдом на основе тетравалентного трастузумаба демонстрирует более высокую цитотоксическую активность по сравнению с соответствующими бивалентными антителами Zyboby.

На фиг. 36В-С показано, что антитела Zyboby со скаффолдом на основе октавалентного трастузумаба и паливизумаба, содержащие 8 копий, нацеленных на DR5 MRD, демонстрируют более высокую цитотоксическую активность по сравнению с соответствующими им тетравалентными антителами Zyboby.

На фиг. 36D показано, что мультиэпитопное нацеливание на отличные от DR5 рецепторы (her2 и рЭФР соответственно) усиливает цитотоксическую активность тетравалентного нацеленного на DR5 MRD.

На фиг. 36F показано, что скаффолд антитела Zyboby на основе mAb (например, цетуксимаба (CET), трастузумаба (TRA) и паливизумаба (PAL)) может влиять на кажущуюся цитотоксическую эффективность нацеленных на DR5 MRD.

На фиг. 37 показано, что Ang-связывающие пептиды могут отличаться в отношении относительного связывания Ang1 и Ang4. Анализировали пептиды ANG100 (SEQ ID NO: 621), ANG126 (SEQ ID NO: 232); ANG129 (SEQ ID NO: 234); ANG156 (SEQ ID NO: 255); ANG157 (SEQ ID NO: 256); ANG163 (SEQ ID NO: 261); ANG179 (SEQ ID NO: 270); ANG200 (SEQ ID NO: 628); ANG303 (SEQ ID NO: 331); ANG318 (SEQ ID NO: 625); ANG335 (SEQ ID NO: 332) и ANG599 (SEQ ID NO: 367).

Подробное описание изобретения

Ниже приводится описание мультивалентных и моновалентных мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител, содержащих по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD)). Связывание одного или большего количества доменов MRD с антителом приводит к образованию мультиспецифической молекулы согласно настоящему изобретению, которая сохраняет структурные и функциональные характеристики традиционных антител или Fc-оптимизированных антител и может легко быть синтезирована с применением стандартных систем и техник экспрессии антител. Указанное антитело может представлять собой любой подходящий антиген-связывающий иммуноглобулин, а MRD может представлять собой любой подходящий связывающий мишень пептид. Домены MRD могут быть функционально связаны с любой локализацией на антителе, и указанное присоединение может быть прямым или косвенным (например, через химический или полипептидный линкер). Композиции с антителами, содержащими MRD, способы получения антител, содержащих MRD, и способы применения антител, содержащих домены MRD, также описаны в приведенных ниже разделах.

Настоящим изобретением также охвачены домены MRD, содержащие MRD композиции, полинуклеотиды, кодирующие домены MRD, способы получения доменов MRD и способы применения MRD, предложенных в настоящем изобретении.

Используемые в настоящем документе названия разделов предназначены исключительно для организационных целей и не должны толковаться как каким-либо образом ограничивающие описываемый предмет изобретения.

Для получения рекомбинантной молекулы ДНК, белка и антител, а также для культивирования тканей и трансформации клеток могут использоваться стандартные техники. Ферментативные реакции и техники очищения, как правило, осуществляют в соответствии с спецификациями изготовителя или со-

гласно общепринятым в данной области техники способам с применением стандартных процедур, таких как приведенные в источниках: Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988) и Sambrook et al., *(Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)) (оба источника включены в настоящий документ посредством ссылки), или согласно описанию в настоящем документе. Если не приведены конкретные определения, лабораторные процедуры и техники аналитической химии, синтетические методы органической химии, медицинской и фармацевтической химии в настоящем документе, а также используемая применительно к ним номенклатура представляют собой известные и применяемые в данной области техники номенклатуру, процедуры и техники. Стандартные техники могут использоваться для химического синтеза, химического анализа, получения фармацевтических составов, лекарственных форм, доставки лекарств и лечения пациентов.

I. Определения.

Термины "мультивалентные и моновалентные мультиспецифические комплексы", "мультивалентные и мультиспецифические комплексы", "MRD-содержащие антитела", "антитело-MRD молекул", "молекулы MRD-антитела", "антитела, содержащие MRD" и "антитела Zyboby" используются в настоящем документе взаимозаменяемо и не охватывают пептитело. Каждый из указанных терминов может также использоваться в настоящем документе для обозначения "комплекса" согласно настоящему изобретению. Мультивалентные и моновалентные мультиспецифические комплексы могут содержать домены MRD, антитела, цитотоксические агенты и связывающие мотивы помимо доменов MRD, которые связываются с одной или большим количеством мишеней. Например, мультивалентный и моновалентный мультиспецифический комплекс (например, MRD-содержащее антитело) может содержать фрагмент или производное связывающей последовательности, содержащейся в антителе (например, одиночный связывающий домен, ScFv, область CDR), и/или может также включать цитотоксический агент (например, терапевтический агент). Такие молекулы также описаны в предварительной заявке на патент США № 61/481063, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. Термины "мультивалентный(ые) и моновалентный(ые) мультиспецифический(ие) комплекс(ы)" и "мультивалентные и моновалентные мультиспецифические комплексы", соответственно, в настоящем документе относятся к композициям, способным связывать 2 или большее количество мишеней, и содержащих один сайт связывания и/или несколько сайтов связывания разных эпитопов. Соответственно, предполагается, что указанный термин включает комплексы, содержащие несколько сайтов связывания для каждого из связываемых указанным комплексом разных эпитопов, или как вариант комплексы, содержащие по меньшей мере один-единственный сайт связывания другого эпитопа. Указанные разные эпитопы могут располагаться на одной или на разных мишенях. Мишени мультивалентных и мультиспецифических комплексов могут располагаться на одной или на разных клетках. Мультивалентные и моновалентные мультиспецифические комплексы могут быть мультивалентными и мультиспецифическими и могут, соответственно, связывать две или большее количество мишеней и содержать два или большее количество сайтов связывания каждой из мишеней, связываемых указанным комплексом. Мультивалентные и моновалентные мультиспецифические комплексы могут также содержать один-единственный сайт (или большее количество единственных сайтов) связывания одной мишени (или большего количества мишеней) и несколько сайтов связывания других мишеней, и, соответственно, указанные комплексы являются моновалентными (в отношении единственного(ых) сайта(ов) связывания), мультивалентными и мультиспецифическими. Кроме того, мультивалентные и моновалентные мультиспецифические комплексы могут быть моновалентными и мультиспецифическими и, соответственно, содержать только единственные сайты связывания двух или большего количества разных мишеней.

Термин "комплекс мультивалентного и моновалентного мультиспецифического комплекса и лекарственного средства" или "MRD-содержащее антитело-цитотоксический агент" в настоящем документе относится к мультивалентному и моновалентному мультиспецифическому комплексу, содержащему одну или большее количество цитотоксических агентов.

Термин "цитотоксический агент" в настоящем документе включает любой агент, оказывающий на клетки неблагоприятное действие, в том числе, например, вещество, которое ингибирует или предотвращает функцию клеток и/или вызывает разрушение клеток. Предполагается, что указанный термин включает химиотерапевтический агент, лекарственное вещество (например, цитокин или пролекарство), антибиотик, радиоактивный изотоп, хелатный лиганд (например, DOTA, DOTP, DOTMA, DTPA и TETA), нуклеолитический фермент, токсин, такой как токсин - малая молекула или ферментативно активный токсин бактериального, грибного, растительного или животного происхождения, включая фрагменты и/или варианты указанных токсинов. Согласно конкретным вариантам реализации указанный цитотоксический агент выбран из ауристатина, доластатина, MMAE, MMAF, производного майтансиноида (например, DM1 (N(2')-деацетил-N(2')-(3-меркапто-1-оксопропил)майтансина), DM3 (N(2')-деацетил-N2-(4-меркапто-1-оксопентил)майтансина) и DM4 (N(2')-деацетил-N2-(4-меркапто-4-метил-1-оксопентил) мйтансина).

Термин "антитело" используется в настоящем документе для обозначения молекул иммуноглобулина, способных связывать антигены посредством антигенсвязывающего домена (т.е. антитело-

комбинирующий сайт). Термин "антитело" включает поликлональные, олигоклональные (смеси антител) и моноклональные антитела, гибридные, одноцепочечные и гуманизированные антитела. Термин "антитело" также включает антитела человека. Согласно некоторым вариантам реализации антитело содержит по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные между собой дисульфидными связями. Каждая тяжелая цепь состоит из вариабельной области тяжелой цепи (обозначаемой в настоящем документе аббревиатурой VH) и константной области тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи состоит из трех доменов CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь состоит из вариабельной области легкой цепи (обозначаемой в настоящем документе аббревиатурой VL) и константной области легкой цепи. Константная область легкой цепи состоит из одного домена CL. Области VH и VL могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарностью областями (CDR), перемежаемые более консервативными областями, называемыми каркасными областями (FR). Каждая из VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных в направлении от аминоконца к карбоксильному концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Согласно другим вариантам реализации указанное антитело представляет собой гомомерное антитело тяжелой цепи (например, антитела камелидов), в котором отсутствует первый домен константной области (CH1), но сохраняет в остальном интактную тяжелую цепь и способен связывать антигены через антигенсвязывающий домен. Вариабельные области тяжелых и легких цепей в гибридах антитело-MRD согласно настоящему изобретению содержат функциональный связывающий домен, взаимодействующий с антигеном.

Термин "моноклональное антитело", как правило, относится к популяции молекул антитела, которые содержат только один вид антитело-комбинирующего сайта, способного вступать в иммунную реакцию с конкретным антигеном. Моноклональное антитело, соответственно, как правило, проявляет один тип сродства к связыванию любого эпитопа, с которым оно вступает в иммунную реакцию. В настоящем документе "моноклональное антитело" может также содержать молекулу антитела, содержащую совокупность антитело-комбинирующих сайтов (т.е. совокупность вариабельных доменов), каждый из которых обладает иммуноспецифичностью в отношении другого антигена, например биспецифическое моноклональное антитело. Соответственно, в настоящем документе "моноклональное антитело" относится к популяции гомогенных антител, вовлеченных в высокоспецифичное распознавание и связывание одной или двух (в случае биспецифического моноклонального антитела) антигенных детерминант, или эпитопов. В этом заключается отличие от поликлональных антител, которые, как правило, включают разные антитела, направленные против разных антигенных детерминант. Термин "моноклональное антитело" относится к таким антителам, полученным любым числом способов, включая, но не ограничиваясь перечисленными, с использованием гибридомы, селекции фагов, рекомбинантной экспрессии, дрожжей и трансгенных животных.

Термин "антитело с двойной специфичностью" используется в настоящем документе для обозначения молекулы иммуноглобулина, которая содержит вариабельный домен иммуноглобулина с двойной специфичностью, при этом указанный вариабельный домен с двойной специфичностью может быть сконструирован из любых двух моноклональных антител.

Термин "гибридные антитела" относится к антителам, отличающимся тем, что последовательность аминокислот молекулы иммуноглобулина происходит из двух или большего количества видов. Как правило, вариабельная область как легких, так и тяжелых цепей соответствует вариабельной области антител, происходящей из одного вида млекопитающих (например, мыши, крысы, кролика и т.д.) с нужной специфичностью и/или сродством (аффинностью), а константные области гомологичны последовательностям антител, происходящих из другого вида (обычно человека), чтобы избежать возникновения иммунного ответа у указанного вида. Термин "гуманизированное антитело" относится к формам не принадлежащих человеку (например, мышинных) антител, представляющих собой специфические цепи иммуноглобулина, гибридные иммуноглобулины или их фрагменты, которые содержат минимальные не принадлежащие человеку (например, принадлежащие мыши) последовательности. Как правило, гуманизированные антитела представляют собой иммуноглобулины человека, в которых остатки определяющей комплементарности области (CDR) заменены остатками CDR не являющегося человеком вида (например, мыши, крысы, кролика, хомяка), обладающими требуемой специфичностью и/или аффинностью (Jones et al., *Nature*, 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323-327 (1988); Verhoeven et al., *Science* 239:1534-1536 (1988)). В некоторых случаях остатки каркасной области Fv (FR) иммуноглобулина человека заменены соответствующими остатками антитела не являющегося человеком вида, обладающего требуемой специфичностью и/или аффинностью. Гуманизированное антитело может быть дополнительно модифицировано путем замены дополнительных остатков или в каркасной области Fv и/или в замененных не принадлежащих человеку остатках для улучшения и оптимизации специфичности, аффинности и/или эффективности антитела. В общем случае гуманизированное антитело содержит, по существу, все по меньшей мере из одного и, как правило, двух или трех вариабельных доменов, содержащих все или, по существу, все из областей CDR, соответствующие не принадлежащему человеку иммуноглобулину, тогда как все или, по существу, все FR-области представляют собой FR-области консенсусной последовательности иммуноглобулина человека. Гуманизированное антитело может также со-

держат константную область иммуноглобулина или домен (Fc), как правило, из иммуноглобулина человека. Примеры способов, используемых для получения гуманизированных антител, описаны в следующих источниках: патент США № 5225539, патент США № 4816567, Morrison, Science 229:1202 (1985); Oi et al., BioTechniques 4:214 (1986); Cabilly et al., Taniguchi et al., EP 171496; Morrison et al., EP 173494, WO 86/01533; WO 8702671; Boulianne et al., Nature 312:643 (1984); и Neuberger et al., Nature 314:268 (1985), каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

В настоящем документе антитела "человека" включают антитела, имеющие последовательность аминокислот иммуноглобулина человека или одной или большего числа зародышевых линий человека и включают антитела, выделенные из библиотек иммуноглобулинов человека или из животных, несущих трансгены одного или большего количества иммуноглобулинов человека и не экспрессирующих эндогенные иммуноглобулины, согласно описанию ниже, а также, например, в патенте США № 5939598, Kucherlapati et al. Антитело человека может по-прежнему считаться "принадлежащим человеку" даже в том случае, когда в указанном антителе осуществлены замены аминокислот. Примеры способов, используемых для получения антител человека, описаны в следующих источниках: международные заявки на патент №№ WO 98/24893, WO 92/01047, WO 96/34096 и WO 96/33735; европейский патент № 0598877; патенты США №№ 5413923, 5625126, 5633425, 5569825, 5661016, 5545806, 5814318, 5885793, 5916771 и 5939598; и Lonberg and Huszar, Int. Rev. Immunol. 13:65-93 (1995), включенных в настоящий документ посредством ссылки.

"Антитело-комбинирующий сайт" представляет собой структурный фрагмент молекулы антитела, состоящий из вариабельных и гипервариабельных областей тяжелой и легкой цепей, который специфически связывает антиген (вступает в иммунную реакцию с антигеном). Термин "вступать в иммунную реакцию" в различных формах означает специфическое связывание между содержащей антигенную детерминанту молекулой и молекулой, содержащей антитело-комбинирующий сайт, такой как целая молекула антитела или ее фрагмент.

Во встречающихся в природе антителах шесть "определяющих комплементарность областей", или "CDR", присутствующих в каждом антигенсвязывающем домене, представляют собой короткие, не являющиеся непрерывными последовательности аминокислот, расположенные специфическим образом, обеспечивающим формирование антигенсвязывающего домена при принятии антителом его трехмерной конфигурации в водной среде. Оставшиеся аминокислоты антигенсвязывающих доменов, называемые "каркасными" областями, демонстрируют меньшую межмолекулярную вариабельность. Каркасные области главным образом имеют β -складчатую конформацию, и области CDR образуют петли, соединяющие указанную β -складчатую структуру, а в некоторых случаях образующие часть указанной β -складчатой структуры. Соответственно, каркасные области действуют таким образом, что образуется скаффолд, обеспечивающий расположение областей CDR в правильной ориентации за счет нековалентных взаимодействий между цепями. Антигенсвязывающий домен (т.е. антитело-комбинирующий сайт), образованный расположенными указанным образом областями CDR определяет комплементарность поверхности эпитопу на иммунореактивном антигене. Указанная комплементарная поверхность обеспечивает нековалентное связывание антитела с когнатным эпитопом. Аминокислоты, содержащие области CDR и каркасные области, соответственно, могут быть легко идентифицированы для любой заданной вариабельной области тяжелой или легкой цепи специалистом в данной области техники, поскольку они были точно определены (см. источники: "Sequences of Proteins of Immunological Interest" ("Последовательности белков, представляющих интерес для иммунологии"), Kabat, E., et al., U.S. Department of Health and Human Services, (1983); а также Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987), включенные в настоящий документ посредством ссылки). "Гуманизированное антитело" или "гибридное антитело" включает антитела, в которых последовательности CDR, происходящие из зародышевой линии другого вида млекопитающих, такого как мышь, привиты на каркасные последовательности человека.

Термины "Т-лимфоцит", "Т-клетка", "Т-клетки" и "популяция Т-клеток" используются в настоящем документе взаимозаменяемо для обозначения клетки или клеток, экспонирующей(их) на поверхности один или большее количество антигенов, характерных для Т-клеток, например CD3 и CD11b. Термин включает потомство Т-клетки или популяцию Т-клеток. "Т-лимфоцит" или "Т-клетка" включает клетку, которая экспрессирует CD3 на клеточной поверхности и Т-клеточный антигенраспознающий рецептор (TCR), способный к распознаванию антигена при экспонировании на поверхности аутологичных клеток или любой антигенпредставляющей матрицы, наряду с одной или большим количеством молекул МНС или одной или большим количеством неклассических молекул МНС. Термин "Т-клетки" может относиться к любым Т-клеткам, в том числе, например, лимфоцитам, фенотипически являющимся CD3⁺, т.е. экспрессирующим CD3 на клеточной поверхности.

В настоящем документе CD3 используется для индивидуального или совокупного обозначения молекулы, экспрессируемой в качестве части Т-клеточного рецептора и имеет значение, которое, как правило, придается указанному термину в данной области техники. В отношении человека термин CD3 охватывает все известные субъединицы CD3, например CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD3-гамма и CD3-зета (TCR-зета), а также CD3-альфа (TCR- α) и CD3-бета (TCR- β), индивидуально или в виде независимых

комбинаций.

Термин "пептитело" относится к пептиду или полипептиду, который содержит менее чем полное интактное антитело. Пептитело может представлять собой Fc-домен антитела, присоединенный по меньшей мере к одному пептиду. Пептитело не включает вариабельные области антитела, антигело-комбинирующий сайт, домены CH1 или домены константной области легкой цепи Ig.

Термин "встречающийся в природе" в отношении биологических материалов, таких как молекулы нуклеиновых кислот, полипептиды, клетки-хозяева и т.п., относится к таким материалам, присутствующим в природе и не модифицированным человеком.

Термин "домен" в настоящем документе относится к части молекулы или структуре, обладающей общими физическими или химическими свойствами, например гидрофобные, полярные, глобулярные, спиральные домены или свойства, например, связывающий белок домен, ДНК-связывающий домен или АТФ-связывающий домен. Домены могут быть идентифицированы на основании гомологичности консервативным структурным или функциональным мотивам.

"Консервативная замена аминокислоты" представляет собой замену, при которой один остаток аминокислоты заменен на другой остаток аминокислоты с аналогичной боковой цепью. В данной области техники определены семейства остатков аминокислот, имеющих аналогичные боковые цепи, включая основные боковые цепи (например, лизин, аргинин, гистидин), кислые боковые цепи (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженные полярные боковые цепи (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярные боковые цепи (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), β -разветвленные боковые цепи (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматические боковые цепи (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). Например, замена фенилаланина на тирозин представляет собой консервативную замену. Согласно некоторым вариантам реализации консервативные замены в последовательностях полипептидов и антител согласно настоящему изобретению не устраняют связывание полипептида или антитела, содержащего указанную последовательность аминокислот, с антигеном(ами), с которым(и) связывается указанный(ое) полипептид или антитело. Способы идентификации консервативных замен и неконсервативных замен нуклеотидов и аминокислот, не устраняющих связывание полипептидов или антигенов, хорошо известны в данной области техники (см., например, Brummell et al., *Biochem.* 32:1180-1187 (1993); Kobayashi et al., *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999); и Burks et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:412-417 (1997)).

"Модульный домен распознавания" (MRD) или "связывающий мишень пептид" представляет собой молекулу, такую как белок, гликопротеин и т.п., способную специфически (неслучайным образом) связываться с целевой молекулой. Как правило, допустима определенная степень вариабельности последовательности аминокислот MRD при сохранении некоторого уровня эффективности связывания целевой молекулы. Далее изменения последовательности могут приводить к изменениям специфичности связывания и константы связывания между заданной целевой молекулой и сайтом связывания. Согласно одному варианту реализации указанный MRD представляет собой агонист мишени, которую он связывает. MRD-агонист относится к MRD, который каким-либо образом повышает или усиливает биологическую активность целевого белка MRD или обладает биологической активностью, сопоставимой с известным агонистом целевого белка MRD. Согласно еще одному варианту реализации MRD представляет собой антагонист мишени, которую он связывает. MRD-антагонист относится к MRD, блокирующему или каким-либо образом влияющему на биологическую активность целевого белка MRD или обладающему биологической активностью, сопоставимой с известным антагонистом или ингибитором целевого белка MRD.

"Рецептор клеточной поверхности" относится к молекулам и комплексам молекул, способным получать сигнал и передавать такой сигнал через плазматическую мембрану клетки. Примером рецептора клеточной поверхности согласно настоящему изобретению является активированный рецептор интегрина, например активированный рецептор интегрин $\alpha_v\beta_3$ на метастатической клетке. В настоящем документе "рецептор клеточной поверхности" также включает молекулу, экспрессируемую на поверхности клетки, которую может связывать MRD-содержащее антитело согласно настоящему изобретению.

В настоящем документе "сайт связывания мишени" или "нацеливающий сайт" представляет собой любую известную или еще не определенную последовательность аминокислот, обладающую способностью селективно связывать заданный агент. Примеры референсных целевых сайтов происходят из RGD-зависимых лигандов интегрин, а именно фибронектина, фибриногена, витронектина, фактора фон Виллебранда и т.п., клеточных рецепторов, таких как ErbB2, ФРЭС, сосудистый хоминг-пептид или ангиогенные цитокины, из белковых рецепторов гормонов, таких как рецептор инсулиноподобного фактора роста-1, рецептор эпидермального фактора роста и т.п., и из опухолевых антигенов.

Термин "эпитоп" или "антигенная детерминанта" используются в настоящем документе взаимозаменяемо и относятся к фрагменту любой молекулы, которая может распознаваться и специфически связываться конкретным связывающим агентом (например, антителом или MRD). Когда распознаваемая молекула представляет собой полипептид, эпитопы могут быть образованы непрерывными последова-

тельностью аминокислот и не являющимися непрерывными последовательностями аминокислот и/или другими химически активными поверхностными группами молекул (таких как углеводы), сближенными за счет третичной укладки белка. Эпитопы, образованные непрерывными последовательностями аминокислот, как правило, сохраняются при денатурации белка, тогда как эпитопы, образованные за счет третичной укладки, как правило, утрачиваются при денатурации белка. Эпитоп, как правило, включает по меньшей мере 3 и чаще по меньшей мере 5 или 8-10 аминокислот в уникальной пространственной конформации.

Говорят, что антитело, MRD, антитело-содержащий MRD или другая молекула "конкурентно ингибирует" связывание референсной молекулы с определенным эпитопом, если она связывается с указанным эпитопом в степени, позволяющей ей блокировать, в некоторой степени, связывание референсной молекулы с указанным эпитопом. Конкурентное ингибирование может быть определено любым способом, известным в данной области техники, например, с применением конкурентного ИФА ELISA. В настоящем документе может говориться, что антитело, MRD, антитело-содержащий MRD или другая молекула конкурентно ингибирует связывание референсной молекулы с определенным эпитопом, например, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 60% или по меньшей мере на 50%.

Термин "белок" определен как биологический полимер, содержащий единицы, происходящие из аминокислот, связанных пептидными связями; белок может состоять из двух или большего количества цепей.

"Гибридный полипептид" представляет собой полипептид, состоящий по меньшей мере из двух полипептидов и, необязательно, соединяющий последовательности для функционального соединения указанных двух полипептидов в один непрерывный полипептид. Указанные два полипептида, соединенные в гибридный полипептид, как правило, происходят из двух независимых источников, и, соответственно, гибридный полипептид содержит два соединенных полипептида, обычно не соединенных в природе. Указанные два полипептида могут быть функционально соединены прямо посредством пептидной связи или могут быть соединены непрямо через линкер, описанный в настоящем документе, или другим известным в данной области техники способом.

Термин "функционально связаны" в настоящем документе указывает на то, что две молекулы соединены таким образом, что каждая из них сохраняет функциональную активность. Две молекулы "функционально связаны" независимо от того, соединены ли они прямо (например, гибридный белок) или непрямо (например, посредством линкера).

Термин "линкер" относится к пептиду, расположенному между антителом и MRD, или между двумя MRD. Длина линкеров может составлять приблизительно 1-20 аминокислот, приблизительно 2-20 аминокислот или приблизительно 4-15 аминокислот. Одна или большее количество указанных аминокислот могут быть гликозилированы, как будет ясно специалистам в данной области техники. Согласно одному варианту реализации указанные 1-20 аминокислот выбраны из глицина, аланина, пролина, аспарагина, глутамина и лизина. Согласно еще одному варианту реализации линкер состоит в основном из стерически не ограниченных аминокислот, таких как глицин и аланин. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанный линкер выбран из полиглицинов (например, (Gly)₅ и (Gly)₈), поли(Gly-Ala) и полиаланинов. Указанный линкер может также представлять собой непептидный линкер, такой как алкильный линкер, или ПЭГ-линкер. Например, могут применяться алкильные линкеры, такие как -NH-(CH₂)_s-C(O)-, где s=2-20.

Указанные алкильные линкеры могут дополнительно быть замещены любой не ограниченной стерически группой, такой как низший алкил (например, C₁-C₆), низший ацил, галоген (например, Cl, Br), CN, NH₂, фенил и т.д. Примером непептидного линкера является ПЭГ-линкер. Согласно определенным вариантам реализации указанный ПЭГ-линкер имеет молекулярную массу, составляющую приблизительно от 100 до 5000 кДа или приблизительно от 100 до 500 кДа. Пептидные линкеры могут быть изменены с получением производных. Согласно некоторым вариантам реализации указанный линкер представляет собой непептидный линкер, такой как алкильный линкер или ПЭГ-линкер. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный линкер представляет собой "расщепляемый линкер", способствующий высвобождению MRD или цитотоксического агента в клетке или поблизости от клетки.

"Целевая клетка" относится к любой клетке у субъекта (например, у человека или животного), на которую может быть нацелена мультиспецифическая и мультивалентная композиция (например, антителосодержащие MRD) или MRD согласно настоящему изобретению. Указанная целевая клетка может представлять собой клетку, экспрессирующую или сверхэкспрессирующую сайт связывания мишени, такой как активированный рецептор интегрина.

Термин "иммунный ответ" относится к действию, например, лимфоцитов, антигенпрезентирующих клеток, фагоцитов, гранулоцитов и растворимых макромолекул, продуцируемых описанными выше клетками или печенью (включая антитела, цитокины и комплемент), которое приводит к селективному повреждению, разрушению или устранению из организма человека инвазивных патогенов, клеток или тканей, инфицированных патогенами, раковых клеток или, в случаях аутоиммунной реакции или патологического воспаления, нормальных клеток или тканей человека.

В настоящем документе термин "эффекторная клетка" относится к иммунной клетке, вовлеченной в эффекторную фазу иммунного ответа, в противоположность фазам распознавания и активации иммунного ответа. Примеры иммунных клеток включают клетку миелоидного или лимфоидного происхождения, например лимфоциты (например, В-клетки и Т-клетки, включая цитолитические Т-клетки (CTL)), клетки киллеры, естественные клетки киллеры, макрофаги, моноциты, эозинофилы, нейтрофилы, полиморфноядерные клетки, гранулоциты, тучные клетки и базофилы). Некоторые эффекторные клетки экспрессируют специфические Fc-рецепторы и выполняют специфические иммунные функции. Согласно определенным вариантам реализации эффекторная клетка способна индуцировать антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ), например, нейтрофил, способный индуцировать АЗКЦ. Например, моноциты и макрофаги, которые экспрессируют FcR, вовлечены в специфический киллинг целевых клеток и представление антигенов другим компонентам иммунной системы, или связывание с клетками, представляющими антигены. Согласно другим вариантам реализации эффекторная клетка может фагоцитировать целевой антиген или целевую клетку. Экспрессия конкретного FcR на эффекторной клетке может регулироваться гуморальными факторами, такими как цитокины. Например, было обнаружено, что экспрессия Fc-рецептора IgA (RI Fc- α) повышающе регулируется гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ) или гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором ГМ-КСФ. Указанная повышенная экспрессия усиливает эффекторную функцию клеток, несущих Fc- α RI, направленную против мишеней. Примеры функций эффекторной клетки включают фагоцитоз или лизис целевого антигена или целевой клетки.

"Целевая клетка" относится к любой клетке или патогену, элиминация которой благоприятна для пациента (например, человека или животного) и на которую может быть нацелена композиция (например, антитело) согласно настоящему изобретению.

"Пациент", "субъект", "животное" или "млекопитающее" используются взаимозаменяемо и относятся к млекопитающим, таким как пациенты-люди и не являющиеся человеком приматы, а также экспериментальным животным, таким как кролики, крысы и мыши, и другим животным. Животные включают всех позвоночных животных, например млекопитающих и не являющихся млекопитающими животных, таких как овцы, собаки, коровы, куры, амфибии и рептилии. Согласно некоторым вариантам реализации указанный пациент представляет собой человека.

"Лечить" или "лечение" включает введение антитела, содержащего MRD согласно настоящему изобретению, для предотвращения или задержки появления симптомов, осложнений или биохимических признаков заболевания, состояния или расстройства, облегчения симптомов или остановки или ингибирования дальнейшего развития указанного заболевания, состояния или расстройства.

Лечение может представлять собой профилактическое (для предотвращения или задержки появления указанного заболевания или для предотвращения проявления его клинических или субклинических симптомов) или терапевтическое подавление или облегчение симптомов после проявления указанного заболевания, состояния или расстройства. Лечение может проводиться с применением только композиции с антителом и MRD, только MRD или с применением комбинации любого из указанных вариантов с одним или большим количеством дополнительных терапевтических агентов.

В настоящем документе термины "фармацевтически приемлемый" или "физиологически переносимый" и их грамматические варианты в отношении композиций, носителей, разбавителей и реагентов используются взаимозаменяемо и означают, что указанные материалы могут быть введены человеку или применены к человеку без чрезмерных терапевтически нежелательных физиологических эффектов, таких как тошнота, головокружение, расстройство желудка и т.п.

"Модулировать" или "модулирует" означает корректировку или регуляцию амплитуды, частоты, степени или активности. Согласно другому родственному аспекту такая модуляция может быть положительной (например, повышение частоты, степени или активности) или отрицательной (например, снижение частоты, степени или активности).

Термины "рак (раковое заболевание)", "опухоль" или "злокачественное новообразование" используются как синонимы и относятся к любым из ряда заболеваний, характеризующихся неконтролируемой аномальной пролиферацией клеток, способностью пораженных клеток распространяться локально или через кровотоки и лимфатическую систему в другие части организма (метастазировать), а также к любым из ряда характерных структурных и/или молекулярных признаков. Под "раковой опухолью" или "злокачественными клетками" понимается клетка, у которой имеются специфические структурные свойства, отсутствует дифференцировка и способная к инвазии и метастазированию. Примеры раковых заболеваний, лечение которых может проводиться с применением гибридов антитело-MRD согласно настоящему изобретению, включают солидные опухоли и гематологическое раковое заболевание. Дополнительные примеры раковых заболеваний, лечение которых может проводиться с применением гибридов антитело-MRD согласно настоящему изобретению, включают рак молочной железы, легкого, головного мозга, костей, печени, почки, толстой кишки, головы и шеи, яичников, гематопозитической системы (например, лейкоз) и рак предстательной железы. Дополнительные примеры раковых заболеваний, для лечения которых могут применяться мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-

содержащие антитела), включают, не ограничиваясь перечисленными, карциному, лимфому, бластому, саркому и лейкоз. Более конкретные примеры таких раковых заболеваний включают плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого, плоскоклеточный рак легкого, рак брюшной полости, гепатоцеллюлярный рак, рак ЖКТ, рак поджелудочной железы, глиобластому, рак шейки матки, рак яичника, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак толстой и прямой кишки, рак эндометрия матки или матки, карциному слюнных желез, рак почки, рак печени, рак предстательной железы, рак вульвы, рак щитовидной железы, гепатокарциному и различные типы рака головы и шеи. Другие типы раковых заболеваний и опухолей, лечение которых может проводиться с применением мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), описаны в настоящем документе или известны из других источников в данной области техники.

"Эффективное количество" антитела, MRD или MRD-содержащего антитела согласно описанию в настоящем документе представляет собой количество, достаточное для достижения конкретной заявленной цели, например обеспечения наблюдаемого изменения уровня одного или большего количества видов биологической активности, связанных с мишенью, с которой связывается указанное антитело, MRD или MRD-содержащее антитело. Согласно определенным вариантам реализации указанное изменение повышает уровень целевой активности. Согласно другим вариантам реализации указанное изменение снижает уровень целевой активности. "Эффективное количество" в отношении заявленной цели может быть определено эмпирически рутинным способом.

Термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству антитела, MRD, MRD-содержащего антитела, других мультивалентных и мультиспецифических лекарственных средств согласно настоящему изобретению или другого лекарственного средства, эффективного для "лечения" заболевания или расстройства у пациента или млекопитающего. В случае ракового заболевания терапевтически эффективное количество лекарственного средства может уменьшать ангиогенез и неоваскуляризацию; уменьшать число раковых клеток; уменьшать размер опухоли; ингибировать (т.е. до некоторой степени замедлять или останавливать) инфильтрацию раковых клеток в периферические органы; ингибировать (т.е. до некоторой степени замедлять или останавливать) метастазирование опухолей; ингибировать до некоторой степени рост опухоли или частоту возникновения опухолей; стимулировать иммунный ответ против раковых клеток и/или облегчать до некоторой степени один или большее количество симптомов, связанных с раковым заболеванием. См. определение "лечения" в настоящем документе. "Терапевтически эффективное количество" также может относиться к количеству, эффективному, при необходимых дозировках и продолжительности применения, для достижения требуемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество композиции, предложенной в настоящем изобретении, может варьировать в зависимости от таких факторов, как статус заболевания, возраст, пол и масса индивидуума, и способности указанной композиции вызывать требуемый ответ у указанного индивидуума. Терапевтически эффективное количество представляет собой также такое количество, при использовании которого терапевтически благоприятные эффекты перевешивают какие-либо токсические или неблагоприятные эффекты указанной терапевтической композиции.

В тех случаях, когда указанное лекарственное средство может предотвращать рост и/или убивать существующие раковые клетки, оно может быть цитостатическим и/или цитотоксическим. "Профилактически эффективное количество" относится к количеству, эффективному, при необходимых дозировках и продолжительности применения, для достижения требуемого профилактического результата. Как правило, но не обязательно, поскольку профилактическая доза применяется у субъектов (пациентов) до заболевания или на более ранней стадии заболевания, указанное профилактически эффективное количество меньше, чем терапевтически эффективное количество.

В тех случаях, когда варианты реализации настоящего изобретения описаны в терминах группы Маркуша или других групп альтернатив, настоящее изобретение охватывает не только всю указанную группу в целом, но также и каждый член указанной группы по отдельности и все возможные подгруппы главной группы, а также главную группу, в которой отсутствует один или большее количество членов указанной группы. Настоящее изобретение также предусматривает явное исключение одной или большего количества любых членов группы в раскрытом и/или заявленном изобретении.

II. Модульные домены распознавания (домены MRD).

В настоящем изобретении описан подход, основанный на получении связывающих мишени пептидов или модульных доменов распознавания (доменов MRD) в виде гибридов с каталитическими или некаталитическими антителами.

Согласно определенным вариантам реализации, когда антитело-компонент гибрида MRD-антитело представляет собой каталитическое антитело, указанные гибриды MRD-антитело обеспечивают эффективное нацеливание на опухолевые клетки или растворимые молекулы при полном сохранении способности к активации пролекарства каталитического антитела. Домены MRD могут также расширять связывающую способность некаталитических антител, обеспечивая эффективный подход к расширению связывающей способности антител, в частности, для терапевтических целей.

Один аспект настоящего изобретения относится к разработке полноразмерного антитела, содержа-

шего по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD). Согласно еще одному неисключительному варианту реализации указанное полноразмерное антитело содержит более одного MRD, при этом указанные домены MRD обладают одинаковыми или разными видами специфичности. Кроме того, одиночный MRD может состоять из тандемного повтора одной или разных последовательностей аминокислот, который может обеспечивать связывание одного MRD с несколькими мишенями и/или с повторяющимся эпитопом на определенной мишени.

Взаимодействие между белковым лигандом и целевым рецепторным сайтом часто происходит на относительно большой площади поверхности. Однако только несколько ключевых остатков на указанной поверхности вносят вклад в большую часть связывания. Домены MRD могут имитировать связывание лиганда. Согласно определенным вариантам реализации указанный MRD может имитировать биологическую активность лиганда (агонист MRD) или путем конкурентного связывания ингибировать биологическую активность лиганда (MRD-антагонист).

Домены MRD в мультивалентных и мультиспецифических композициях (например, MRD-содержащих антителах) могут также влиять на мишени другим образом, например нейтрализуя, блокируя, стабилизируя, объединяя или перекрестно сшивая мишень MRD.

Предполагается, что домены MRD согласно настоящему изобретению обычно содержат пептидную последовательность, которая связывается с представляющими интерес целевыми сайтами и имеют длину, составляющую приблизительно от 2 до 150 аминокислот, приблизительно от 2 до 125 аминокислот, приблизительно от 2 до 100 аминокислот, приблизительно от 2 до 90 аминокислот, приблизительно от 2 до 80 аминокислот, приблизительно от 2 до 70 аминокислот, приблизительно от 2 до 60 аминокислот, приблизительно от 2 до 50 аминокислот, приблизительно от 2 до 40 аминокислот, приблизительно от 2 до 30 аминокислот или приблизительно от 2 до 20 аминокислот. Предполагается также, что домены MRD имеют длину, составляющую приблизительно от 10 до 150 аминокислот, приблизительно от 10 до 125 аминокислот, приблизительно от 10 до 100 аминокислот, приблизительно от 10 до 90 аминокислот, приблизительно от 10 до 80 аминокислот, приблизительно от 10 до 70 аминокислот, приблизительно от 10 до 60 аминокислот, приблизительно от 10 до 50 аминокислот, приблизительно от 10 до 40 аминокислот, приблизительно от 10 до 30 аминокислот или приблизительно от 10 до 20 аминокислот. Дополнительно предполагается, что домены MRD имеют длину, составляющую приблизительно от 20 до 150 аминокислот, приблизительно от 20 до 125 аминокислот, приблизительно от 20 до 100 аминокислот, приблизительно от 20 до 90 аминокислот, приблизительно от 20 до 80 аминокислот, приблизительно от 20 до 70 аминокислот, приблизительно от 20 до 60 аминокислот, приблизительно от 20 до 50 аминокислот, приблизительно от 20 до 40 аминокислот или приблизительно от 20 до 30 аминокислот. Согласно определенным вариантам реализации длина указанных MRD составляет приблизительно от 2 до 60 аминокислот. Согласно другим вариантам реализации длина указанных MRD составляет приблизительно от 10 до 60 аминокислот. Согласно другим вариантам реализации длина указанных MRD составляет приблизительно от 10 до 50 аминокислот. Согласно дополнительным вариантам реализации длина указанных MRD составляет приблизительно от 10 до 40 аминокислот. Согласно дополнительным вариантам реализации длина указанных MRD составляет приблизительно от 10 до 30 аминокислот.

Согласно некоторым вариантам реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащие антитела) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-3} М, 10^{-3} М, 5×10^{-4} М, 10^{-4} М, 5×10^{-5} М, 10^{-5} М, 5×10^{-6} М, 10^{-6} М, 5×10^{-7} М, 10^{-7} М, 5×10^{-8} М, 10^{-8} М, 5×10^{-9} М, 10^{-9} М, 5×10^{-10} М, 10^{-10} М, 5×10^{-11} М, 10^{-11} М, 5×10^{-12} М, 10^{-12} М, 5×10^{-13} М, 10^{-13} М, 5×10^{-14} М, 10^{-14} М, 5×10^{-15} М или 10^{-15} М. Согласно одному варианту реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащие антитела) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-5} М. Согласно еще одному варианту реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащие антитела) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-8} М. Согласно еще одному варианту реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащие антитела) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-9} М. Согласно еще одному варианту реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащие антитела) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-10} М. Согласно еще одному варианту реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащие антитела) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-11} М. Согласно еще одному варианту реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащие антитела) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-12} М.

Согласно конкретным вариантам реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител)

связывают свои мишени со скоростью диссоциации (k_{off}), составляющей менее $5 \times 10^{-2} \text{ c}^{-1}$, 10^{-2} c^{-1} , $5 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или 10^{-3} c^{-1} . Предпочтительнее, если один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) связывают свои мишени со скоростью диссоциации (k_{off}), составляющей менее $5 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$, 10^{-4} c^{-1} , $5 \times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ или 10^{-5} c^{-1} , $5 \times 10^{-6} \text{ c}^{-1}$, 10^{-6} c^{-1} , $5 \times 10^{-7} \text{ c}^{-1}$ или 10^{-7} c^{-1} .

Согласно другим конкретным вариантам реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) связывают свои мишени со скоростью связывания (k_{on}), составляющей более $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$, $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$, $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ или $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$. Предпочтительнее, если один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) связывают свои мишени со скоростью связывания (k_{on}), составляющей более $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$, $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$, $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$, или $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$, или $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$.

Согласно некоторым вариантам реализации указанные домены MRD представляют собой белки Affibody. Белки Affibody представляют собой класс аффинных белков на основе белкового домена из 58 остатков аминокислот, происходящего из одного из IgG-связывающих доменов белка А стафилококка. Указанный трехспиральный домен использовался в качестве скаффолда для конструирования комбинаторных фагемидных библиотек, из которых варианты Affibody, которые связывают требуемую целевую молекулу, например одну или большее количество мишеней, раскрытых в настоящем документе, могут быть выбраны рутинным способом с применением технологии фагового дисплея (см., например, Nord et al., Nat. Biotechnol. 15:772-7 (1997) и Ronmark et al., A, Eur. J. Biochem. 2002; 269:2647-55). Дальнейшая информация о белках Affibody и способах их получения приведена в виде ссылки на патент США № 5831012, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно другим вариантам реализации MRD согласно настоящему изобретению (например, MRD на MRD-содержащем антителе) содержит один или большее количество остатков аминокислот или последовательностей остатков аминокислот (включая их производные, аналоги и миметики), преимущественное нацеливание на которые обеспечивается химическими или другими процессами, ковалентно или нековалентно связывающими молекулярный объект с MRD, по сравнению с MRD без преимущественного нацеливания на последовательности или без антитела-компонента MRD-содержащего антитела. Например, согласно некоторым вариантам реализации указанная последовательность аминокислот MRD содержит один или большее количество остатков, имеющих реакционноспособную боковую цепь (например, цистеин или лизин), обеспечивающую селективное или преимущественное связывание указанного MRD с цитотоксическими агентами (например, конъюгатами лекарственных средств и пролекарств, токсинами и биологически активными лигандами) или агентами для визуализации. Применение указанных "связывающих" MRD для обеспечения MRD-содержащего антитела "нагрузкой" решает многие проблемы, связанные с дестабилизацией антитела и снижением активности антитела, часто наблюдавшихся при применении стандартных способов получения иммунотоксинов. Компонент "нагрузки" комплекса с MRD-содержащим антителом согласно настоящему изобретению может представлять собой любую композицию, обеспечивающую благоприятный терапевтический, диагностический или прогностический эффект или обеспечивающую преимущество при получении, очищении или приготовлении состава с MRD-содержащим антителом. Согласно некоторым вариантам реализации указанная нагрузка представляет собой химиотерапевтическое лекарственное средство или пролекарство, такое как доксорубин, или майтансиноидподобное лекарственное средство. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная нагрузка представляет собой другой MRD, токсин, химиотерапевтическое лекарственное средство, каталитический фермент, пролекарство, радиоактивный нуклид, хелатор (например, для присоединения лантаноидов) или другой компонент предопределенных в настоящем изобретении мультивалентных и мультиспецифических композиций согласно описанию в настоящем документе.

Согласно неисключительным вариантам реализации указанный MRD не содержит антигенсвязывающего домена или другого домена антитела, такого как константная область, переменная область, определяющая комплементарность область (CDR), каркасная область, Fc-домен или шарнирная область. Согласно одному неисключительному варианту реализации указанный MRD не содержит антигенсвязывающего домена. Согласно еще одному неисключительному варианту реализации указанный MRD не содержит трех областей CDR. Согласно еще одному неисключительному варианту реализации указанный MRD не содержит CDR1 и CDR2. Согласно еще одному неисключительному варианту реализации указанный MRD не содержит CDR1. Согласно одному неисключительному варианту реализации указанный MRD не происходит из природного клеточного лиганда. Согласно другому неисключительному варианту реализации указанный MRD не является радиоизотопом. Согласно другому неисключительному варианту реализации указанный MRD не является маркером экспрессии белка, таким как глутатион S-трансфераза (GST), His-метка, метка Flag, гемоглобинин (ГА), метка MYC или флуоресцентный белок (например, GFP или RFP). Согласно другому неисключительному варианту реализации указанный MRD не связывает сывороточный альбумин. Согласно дополнительному неисключительному варианту реализации указанный MRD не является малой молекулой, которая представляет собой цитотоксин. Согласно

еще одному неисключительному варианту реализации указанный MRD не обладает ферментативной активностью. Согласно еще одному неисключительному варианту реализации MRD при введении отдельно и/или в соединенном с Fc виде оказывает терапевтический эффект на пациента или в модели на животных. Согласно еще одному неисключительному варианту реализации MRD при неоднократном введении отдельно и/или в соединенном с Fc виде оказывает терапевтический эффект на пациента или в модели на животных (например, 3 или более раз на протяжении курса продолжительностью по меньшей мере шесть месяцев).

Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD конформационно ограничен. Согласно другим вариантам реализации указанный MRD конформационно не ограничен. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD содержит один остаток цистеина. Указанный остаток цистеина в MRD может формировать межцепочечную связь (например, между цистеинами в одном MRD, между разными связанными пептидной связью доменами MRD, и между MRD и связанным пептидной связью иммуноглобулином). Согласно некоторым вариантам реализации MRD, вовлеченный(ые) в указанную межцепочечную связь, связан(ы) с единственным коровым связывающим мишень доменом. Согласно другим вариантам реализации домен(ы) MRD, вовлеченный(ые) в межцепочечную связь, связан(ы) с несколькими коровыми связывающими мишень доменами. Согласно альтернативному варианту реализации остаток цистеина в MRD может образовывать межцепочечную связь (например, между цистеинами связанных непептидной связью доменов MRD или MRD и иммуноглобулина, не связанных пептидной связью). Согласно некоторым вариантам реализации домен(ы) MRD, связанный(ые) межцепочечной связью, связан(ы) с единственным коровым связывающим мишень доменом (т.е. 2 домена MRD, расположенные на разных полипептидных цепях, образуют одну или большее количество межцепочечных связей и в совокупности образуют один сайт связывания мишени). Соответственно, например, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, отличающиеся тем, что домены MRD, расположенные на карбоксильном конце тяжелой цепи, взаимодействуют (например, посредством дисульфидной связи) с образованием единственного сайта связывания мишени. Согласно другим вариантам реализации указанный(ые) MRD, связанный(ые) межцепочечной связью, связан(ы) с несколькими коровыми связывающими мишень доменами. Как вариант, согласно описанию в настоящем документе, MRD может содержать один или большее количество остатков цистеина (или других остатков, имеющих реакционно-способную боковую цепь (например, лизина)), обеспечивающий селективное или преимущественное связывание MRD с цитотоксическим агентом. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD содержит два остатка цистеина вне корового связывающего мишень домена. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD содержит два остатка цистеина, расположенные в пределах корового связывающего мишень домена на каждом конце указанного связывающего мишень домена. Согласно некоторым вариантам реализации первый цистеин расположен возле конца молекулы (т.е. на С-конце домена MRD на С-конце линкера или цепи антитела или на N-конце домена MRD на N-конце линкера или цепи антитела). Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации первый цистеин расположен в пределах одной аминокислоты, в пределах двух аминокислот, в пределах трех аминокислот, в пределах четырех аминокислот, в пределах пяти аминокислот или в пределах шести аминокислот от конца молекулы. Согласно некоторым вариантам реализации второй цистеин расположен возле локализации гибрида MRD (т.е. на N-конце домена MRD на С-конце линкера или цепи антитела или на С-конце домена MRD на N-конце линкера или цепи антитела). Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации второй цистеин расположен в пределах одной аминокислоты, в пределах двух аминокислот, в пределах трех аминокислот, в пределах четырех аминокислот, в пределах пяти аминокислот, в пределах 10 аминокислот или в пределах 15 аминокислот от MRD-гибрида.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD экпирован стабильными остатками. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD экпирован дисульфидом. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD не содержит сайтов расщепления.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD выбран таким образом, что он не содержит известных потенциальных Т-клеточных эпитопов человека. Согласно некоторым конкретным вариантам реализации указанный MRD обладает конкретной гидрофобностью. Например, гидрофобность доменов MRD может сравниваться на основании времени удержания, определенного с применением хроматографии гидрофобного взаимодействия или жидкостной хроматографии с обращенной фазой.

Мишень MRD может представлять собой любую молекулу, взаимодействие MRD-содержащего антитела с которой является желательным. Например, мишень MRD может представлять собой растворимый фактор или трансмембранный белок, такой как рецептор клеточной поверхности. Мишень MRD может также представлять собой внеклеточный компонент или внутриклеточный компонент. Согласно определенным неисключительным вариантам реализации мишень MRD представляет собой фактор, который регулирует пролиферацию, дифференцировку или выживаемость клеток. Согласно другим неисключительным вариантам реализации мишень MRD представляет собой цитокин. Согласно другому неисключительному варианту реализации мишень MRD представляет собой фактор, который регулирует ангиогенез. Согласно другому неисключительному варианту реализации мишень MRD представляет собой фактор, который регулирует клеточную адгезию и/или межклеточные взаимодействия. Согласно

определенным неисключительным вариантам реализации мишень MRD представляет собой молекулу клеточной сигнализации. Согласно другому неисключительному варианту реализации мишень MRD представляет собой фактор, который регулирует одну или большее количество иммунных реакций, таких как аутоиммунная реакция, воспаление и иммунный ответ против раковых клеток. Согласно другому неисключительному варианту реализации мишень MRD представляет собой фактор, который регулирует клеточную адгезию и/или межклеточные взаимодействия.

Согласно дополнительному неисключительному варианту реализации мишень MRD представляет собой молекулу клеточной сигнализации. Согласно еще одному варианту реализации MRD может связывать мишень, которая сама представляет собой MRD. Способность доменов MRD связывать мишень и блокировать, увеличивать или влиять на биологическую активность целевого MRD может быть определена с применением или путем рутинной модификации известных в данной области техники анализов, биологических анализов и/или моделей на животных для оценки такой активности.

Домены MRD способны связывать соответствующую им мишень, когда они присоединены к антигену. Согласно некоторым вариантам реализации MRD способен связывать соответствующую ему мишень, когда он не присоединен к антигену. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD представляет собой агонист мишени. Согласно другим вариантам реализации указанный MRD представляет собой антагонист мишени. Согласно определенным вариантам реализации указанный MRD может применяться для локализации MRD-содержащего антигена в области, где расположена мишень MRD. Последовательность MRD может быть определена несколькими способами. Например, последовательности MRD может происходить из природных лигандов или известных последовательностей, которые связываются со специфическим сайтом связывания мишени. Кроме того, появились технологии фагового дисплея, обеспечивающие эффективный метод идентификации пептидов, которые связываются с целевыми рецепторами и лигандами. В пептидных библиотеках с фаговым дисплеем встречающиеся в природе и не встречающиеся в природе последовательности (например, случайные пептидные последовательности) могут быть экспонированы путем слияния с белками оболочки нитевидного фага. Способы выявления сайтов связывания на полипептидах с применением векторов фагового дисплея были описаны ранее, в частности, в WO 94/18221, которая включена в настоящий документ посредством ссылки. Указанные способы в общем включают применение экспрессионной векторной системы на основе поверхности нитевидного фага (фагмиды) для клонирования и экспрессирования полипептидов, которые связываются с заданным представляющим интерес нацеливающим сайтом. Способы получения доменов MRD согласно настоящему изобретению включают применение векторов фагового дисплея ввиду их особого преимущества, заключающегося в возможности скрининга очень большой популяции экспрессируемых экспонируемых белков и, таким образом, локализации одного или большего количества специфических клонов, кодирующих требуемую реакционную способность в отношении связывания мишени. Способность полипептидов, кодируемых указанными клонами, связывать мишень и/или изменять биологическую активность мишени может быть определена с применением или путем рутинной модификации анализов и другие методики, описанных в настоящем документе или известных из других источников в данной области техники. Например, для идентификации и улучшения связывающих свойств доменов MRD может применяться технология фагового дисплея. См., например, Scott et al., *Science* 249:386 (1990); Devlin et al., *Science* 249:404 (1990); патенты США №№ 5223409, 5733731, 5498530, 5432018, 5338665, 5922545 и международные заявки на патент №№ WO 96/40987 и WO 98/15833; включенные в настоящий документ посредством ссылки. В пептидных библиотеках с фаговым дисплеем природные и/или не встречающиеся в природе пептидные последовательности могут быть экспонированы путем слияния с белками оболочки нитевидного фага. При необходимости может быть проведено аффинное элюирование экспонированных пептидов против представляющей интерес мишени. Оставшийся фаг может быть обогащен путем проведения последовательных циклов аффинной очистки и повторного размножения. Наилучшим образом связывающие мишень пептиды могут быть секвенированы для идентификации ключевых остатков в пределах одного или нескольких структурно родственных семейств пептидов. См., например, Cwirla et al., *Science* 276:1696-9 (1997), в которых были идентифицированы два отдельных семейства. Пептидные последовательности могут также позволить предположить, какие остатки могут быть безопасно удалены путем аланинового сканирования или путем мутагенеза на уровне ДНК. Могут быть созданы библиотеки мутагенеза и проведен их скрининг для дополнительной оптимизации последовательности наилучших связывающих веществ. Lowman, *Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 26:401-424 (1997).

Структурный анализ белок-белковых взаимодействий может также использоваться для прогнозирования пептидов, которые имитируют связывающую активность больших белковых лигандов. В таком анализе по кристаллической структуре можно идентифицировать большой белковый лиганд, из которого может быть сконструирован пептид, например MRD, и определить взаимную ориентацию его ключевых остатков. См., например, Takasaki et al., *Nature Biotech.* 15:1266-1270 (1997). Указанные аналитические способы могут также использоваться для исследования взаимодействия между мишенью и MRD, отобранным с помощью фагового дисплея, которое может предусматривать дополнительную модификацию доменов MRD для увеличения сродства к связыванию.

Другие известные в данной области техники способы могут применяться для идентификации доменов MRD. Например, пептидная библиотека может быть соединена с карбоксильным концом лас-репрессора и экспрессирована в *E. coli*. Другой способ на основе *E. coli* позволяет обеспечить дисплей на внешней мембране клеток путем слияния с ассоциированным с пептидогликаном липопротеином (PAL). Указанные и родственные им способы в совокупности называют "дисплеем *is. Coli*". В другом способе трансляцию случайной РНК останавливают до высвобождения с рибосомы, что приводит к получению библиотеки полипептидов, к которым по-прежнему присоединены ассоциированные РНК. Указанные и родственные способы в совокупности называют "рибосомным дисплеем". Другие известные способы задействуют химическое связывание пептидов с РНК. См., например, Roberts and Szostak, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:12297-12303 (1997). Указанный способ и родственные способы в совокупности называют "РНК-пептидный скрининг, РНК-дисплей и мРНК-дисплей". Были разработаны полученные химическим путем пептидные библиотеки, в которых пептиды иммобилизованы на стабильных небиологических материалах, таких как полиэтиленовые стержни или проникаемые для растворителя смолы. В другой химически полученной пептидной библиотеке применяется фотолитография для сканирования пептидов, иммобилизованных на стеклянных пластинах. Указанные и родственные им способы в совокупности называют "химическим пептидным скринингом". Химический пептидный скрининг может обладать преимуществом, позволяя применять D-аминокислоты и другие неприродные аналоги, а также непептидные элементы. Обзор и биологических, и химических способов приведен у Wells and Lowman, *Curr. Opin. Biotechnol.* 3:355-362 (1992). Кроме того, библиотеки с ограничениями конформации, линейные библиотеки и/или направленные библиотеки (состоящие из структурно родственных доменов, обладающих значимой гомологией первичной последовательности) могут применяться для идентификации, описания и модификации доменов MRD.

Усовершенствованный MRD, который специфически связывает требуемую мишень, может также быть получен на основе известной последовательности MRD. Например, в известную последовательность MRD могут быть введены по меньшей мере одна, два, три, четыре, пять или большее число мутаций аминокислот (например, консервативных или неконсервативных замен), удалений или вставок, и может быть проведен скрининг полученного MRD на связывание с требуемой мишенью и биологическую активность, такую как способность антагонизировать целевую биологическую активность или агонизировать целевую биологическую активность. Согласно еще одному варианту реализации обеспечивают аффинное созревание сайтов, выбранных для модификации, с применением известной в данной области техники фагового дисплея. См., например, Lowman, *Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 26:401-424 (1997).

Для модификации индивидуальных нуклеотидов в последовательности ДНК с целью добавления(ий), замены(ы) или удаления(ий) аминокислот(ы) в последовательности антитела или для получения/удаления сайтов рестрикции и последовательностей, кодирующих требуемые аминокислоты (например, цистеин) для облегчения дальнейших манипуляций, может применяться любая техника мутагенеза, известная в данной области техники. Такие техники включают, не ограничиваясь перечисленными, химический мутагенез, сайт-специфический мутагенез *in vitro* (Kunkel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:488 (1985); Hutchinson et al., *J. Biol. Chem.* 253:6551 (1978)), олигонуклеотид-направленный мутагенез (Smith, *Ann. Rev. Genet.* 19:423-463 (1985); Hill et al., *Methods Enzymol.* 155:558-568 (1987)), мутагенез на основе ПЦР с перекрывающимися праймерами (Ho et al., *Gene* 77:51-59 (1989)), мутагенез на основе ПЦР с использованием мегапраймеров (Sarkar et al., *Biotechniques* 8:404-407 (1990)) и т.д. Модификации могут быть подтверждены путем секвенирования ДНК.

Дополнительные гибридные белки могут быть получены с использованием техник шаффлинга генов, шаффлинга мотивов, шаффлинга экзонов и/или шаффлинга кодонов (в совокупности называемых "шаффлингом ДНК"). Шаффлинг ДНК может применяться для изменения активности SYNAGIS® или его фрагментов (например, антитело или его фрагмент с большей аффинностью и меньшими скоростями диссоциации). См., в целом, источники: патенты США №№ 5605793, 5811238, 5830721, 5834252 и 5837458 и Patten et al., *Curr. Opin. Biotechnol.* 8:724-33 (1997); Harayama et al., *Trends Biotechnol.* 16(2):76-82 (1998); Hansson et al., *J. Mol. Biol.* 287:265-76 (1999); Lorenzo et al., *Biotechniques* 24(2):308-313 (1998); опубликованные заявки на патент США №№ 20030118592 и 20033013393 и опубликованную международную заявку № WO 02/056910; каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Кроме того, домены MRD могут быть идентифицированы на основе оказываемых ими эффектов в анализах для оценки конкретных путей или типов активности. Например, анализы для оценки сигнальных путей (например, исследования фосфорилирования или мультимеризации), тока через ионные каналы, внутриклеточных уровней цАМФ, клеточной активности, например миграции, адгезии, пролиферации или апоптоза; проникновения, репликации, баддинга или интеграции вируса могут применяться для идентификации, описания и усовершенствования доменов MRD.

В объем настоящего изобретения входят варианты и производные доменов MRD, сохраняющие способность связывать целевой антиген. В варианты включены варианты со вставками, удалениями и заменами, а также варианты, включающие домены MRD, представленные в настоящем документе, с до-

полнительными аминокислотами на N-конце и/или C-конце, включающими приблизительно от 0 до 50, от 0 до 40, от 0 до 30, от 0 до 20 аминокислот и т.п. Следует понимать, что конкретный MRD согласно настоящему изобретению может быть модифицирован таким образом, чтобы содержать варианты одного, двух или всех трех типов. Варианты со вставками и заменами могут включать природные аминокислоты, нестандартные аминокислоты или и первые, и вторые. Согласно некоторым вариантам реализации MRD содержит последовательность, отличающуюся не более чем на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 или 20 аминокислот от последовательности MRD, описанной в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации указанные аминокислотные отличия представляют собой замены. Указанные замены могут быть консервативными или неконсервативными в природе и могут включать нестандартные или не встречающиеся в природе аминокислоты. Согласно другим вариантам реализации указанный MRD содержит последовательность, которая конкурентно ингибирует способность MRD-содержащей последовательности, описанной в настоящем документе, связываться с целевой молекулой. Способность домена MRD конкурентно ингибировать другую MRD-содержащую последовательность, может быть определена с применением известных в данной области техники техник, включая анализ ELISA и BIAcore.

Способность домена MRD связывать соответствующую ему мишень может оцениваться с применением любой техники оценки молекулярного взаимодействия. Например, взаимодействие MRD-мишень может быть проанализировано согласно описанию в примерах ниже или, как вариант, с применением анализов связывания *in vitro* или *in vivo*, таких как вестерн-блоттинг, радиоиммунологический анализ, ИФА ELISA (твердофазный иммуоферментный анализ), "сэндвич"-иммуноанализ, иммунопреципитационный анализ, флуоресцентный иммуноанализ, иммуноанализ с белком А и иммуногистохимический анализ (ИГХ). Для непрямой оценки взаимодействия MRD-мишень могут также применяться анализы для определения способности домена MRD функционально влиять на его мишень (например, анализы для измерения сигнализации, пролиферации, миграции и т.д.).

Усовершенствованный MRD, имеющий конкретный период полувыведения *in vivo*, может также быть получен на основе известной последовательности MRD. Например, в известную последовательность MRD могут быть введены по меньшей мере одна, два, три, четыре, пять или более мутаций аминокислот (например, консервативные или неконсервативные замены), удалений или вставок, и может быть проведен скрининг полученного MRD для определения увеличенного периода полувыведения. Соответственно, в мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) могут быть включены варианты и производные доменов MRD, сохраняющие способность связывать мишень и имеющие увеличенный период полувыведения. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации домен MRD в MRD-содержащем антителе имеет период полувыведения, составляющий по меньшей мере приблизительно 5, по меньшей мере приблизительно 10, по меньшей мере приблизительно 15, по меньшей мере приблизительно 20, по меньшей мере приблизительно 25, по меньшей мере приблизительно 30, по меньшей мере приблизительно 35, по меньшей мере приблизительно 40, по меньшей мере приблизительно 45, по меньшей мере приблизительно 50, по меньшей мере приблизительно 55, по меньшей мере приблизительно 60, по меньшей мере приблизительно 65, по меньшей мере приблизительно 70, по меньшей мере приблизительно 75, по меньшей мере приблизительно 80, по меньшей мере приблизительно 85, по меньшей мере приблизительно 90, по меньшей мере приблизительно 95, по меньшей мере приблизительно 100, по меньшей мере приблизительно 110, по меньшей мере приблизительно 120, по меньшей мере приблизительно 130, по меньшей мере приблизительно 140 или по меньшей мере приблизительно 150 ч. Согласно некоторым вариантам реализации домен MRD в MRD-содержащем антителе имеет период полувыведения, составляющий по меньшей мере приблизительно 5, по меньшей мере приблизительно 10, по меньшей мере приблизительно 15, по меньшей мере приблизительно 20, по меньшей мере приблизительно 25, по меньшей мере приблизительно 30, по меньшей мере приблизительно 35, по меньшей мере приблизительно 40, по меньшей мере приблизительно 45, по меньшей мере приблизительно 50, по меньшей мере приблизительно 55, по меньшей мере приблизительно 60, по меньшей мере приблизительно 65, по меньшей мере приблизительно 70, по меньшей мере приблизительно 75, по меньшей мере приблизительно 80, по меньшей мере приблизительно 85, по меньшей мере приблизительно 90, по меньшей мере приблизительно 95, по меньшей мере приблизительно 100, по меньшей мере приблизительно 110, по меньшей мере приблизительно 120, по меньшей мере приблизительно 130, по меньшей мере приблизительно 140 или по меньшей мере приблизительно 150 ч. После установления последовательности MRD могут быть получены пептиды с помощью любых известных в данной области техники способов. Например, пептиды MRD могут быть химически синтезированы и функционально соединены с антителом или могут быть синтезированы с применением рекомбинантной технологии. Например, домены MRD могут быть синтезированы в растворе или на твердой подложке с применением известных техник. Коммерчески доступны и могут применяться в соответствии с известными протоколами различные автоматические установки для синтеза. См., например, Tam et al., J. Am. Chem. Soc. 105:6442 (1983); Merrifield, Science 232:341-347 (1986); Barany and Merrifield, The Peptides, Gross and Meienhofer, eds, Academic Press, New York, 1-284; Barany et al., Int. J. Pep. Protein Res., 30:705-739 (1987); и патент США № 5424398, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Могут быть синтезированы домены MRD с ковалентно присоединенными молекулами, не являющимися аминокислотами, но способствующими очищению, идентификации и/или отслеживанию домена MRD *in vitro* или *in vivo* (например, биотином для реакции с авидином или мечеными авидином молекулами). Ниже, исключительно в качестве примеров, более подробно описаны мишени MRD. Согласно некоторым описанным в настоящем документе вариантам реализации MRD нацелен на интегрин. Роль интегринов, таких как $\alpha v \beta 3$ и $\alpha v \beta 5$, как опухолеассоциированных маркеров была подробно описана. Недавнее исследование 25 перманентных устойчивых клеточных линий человека, полученных из распространенного рака яичника, продемонстрировало, что все линии были положительными по экспрессии $\alpha v \beta 5$ и многие были положительными по экспрессии $\alpha v \beta 3$. Исследования также показали, что $\alpha v \beta 3$ и $\alpha v \beta 5$ интенсивно экспрессируются в тканях злокачественных опухолей шейки матки человека. Интегрины также демонстрировали терапевтические эффекты в моделях саркомы Капоши, меланомы и рака молочной железы на животных.

Ряд антагонистов интегринов $\alpha v \beta 3$ и $\alpha v \beta 5$ находится в клинической разработке. Указанные антагонисты включают циклические RGD-пептиды и синтетические миметики RGD - малые молекулы. Два антагониста интегринов на основе антител в настоящий момент проходят клинические испытания для лечения раковых заболеваний. Первое представляет собой витаксин (VITAXIN®, MEDI-522, Abegreïn), гуманизованную форму антитела мыши LM609 против $\alpha v \beta 3$ человека. Исследование I фазы по эскалации дозы у пациентов с раковыми заболеваниями продемонстрировало, что VITAXIN® безопасен для применения у человека. Другое антитело, проходящее клинические испытания, представлено CNT095, полностью человеческим антителом, распознающим интегрин αv . Исследование I фазы антитела CNT095 у пациентов с различными солидными опухолями показало, что оно хорошо переносится. Была также подтверждена в испытаниях I фазы безопасность циленгитида (EMD 121974), пептидного антагониста $\alpha v \beta 3$ и $\alpha v \beta 5$. Также проводились многочисленные исследования лекарственных средств направленного воздействия и визуализация на основе применения лигандов указанных рецепторов. Указанные доклинические и клинические наблюдения демонстрируют важность направленного воздействия на $\alpha v \beta 3$ и $\alpha v \beta 5$, и исследования, включавшие применение антител в указанной стратегии, стабильно подтверждали, что направленное воздействие через указанные интегрины безопасно.

Также продолжаются клинические испытания антагонистов, нацеленных на $\alpha 5 v \beta 1$, для лечения метастатической меланомы, почечноклеточной карциномы и немелкоклеточного рака легкого (M200 (волоциксимаб)) и злокачественной глиомы (ATN-161).

Примером доменов MRD согласно настоящему изобретению являются интегрин-связывающие домены MRD, содержащие один или большее количество мотивов с трипептидной последовательностью RGD. Хорошо известны лиганды, содержащие мотив RGD в качестве минимального домена распознавания, из которых могут быть получены MRD согласно настоящему изобретению; их неполный перечень включает (соответствующие целевые интегрины указаны в скобках) фибронектин ($\alpha 3 \beta 1$, $\alpha 5 \beta 1$, $\alpha v \beta 1$, $\alpha 1 \text{Ib} \beta 3$, $\alpha v \beta 3$ и $\alpha 3 \beta 1$) фибриноген ($\alpha \text{M} \beta 2$ и $\alpha 1 \text{Ib} \beta 1$), фактор фон Виллебранда ($\alpha 1 \text{Ib} \beta 3$ и $\alpha v \beta 3$) и витронектин ($\alpha 1 \text{Ib} \beta 3$, $\alpha v \beta 3$ и $\alpha v \beta 5$).

Согласно одному варианту реализации указанные содержащие RGD направленные MRD выбраны из группы, состоящей из

YCRGDCT (SEQ ID NO:3); PCRGDCL (SEQ

ID NO:4); TCRGDCY (SEQ ID NO:5); и LCRGDCF (SEQ ID NO:6).

MRD, имитирующий RGD-независимый сайт связывания на рецепторе интегрин и обладающий в отношении связывания мишени специфичностью высокоаффинного лиганда, который распознает выбранный интегрин, также охвачен настоящим изобретением. Также включены домены MRD, которые связываются с рецептором интегрин и нарушают связывание и/или сигнальную активность интегрин. Согласно некоторым вариантам реализации MRD нацелен на ангиогенную молекулу. Ангиогенез критически важен для многих физиологических и патологических процессов. Было показано, что Ang2 действует как проангиогенная молекула. Введения селективных ингибиторов Ang2 достаточно для подавления как опухолевого ангиогенеза, так и ангиогенеза рога. Соответственно, ингибирование только Ang2 или ингибирование Ang2 в сочетании с ингибированием других ангиогенных факторов, таких как ФРЭС, может представлять собой эффективную антиангиогенную стратегию для лечения пациентов с солидными опухолями.

Предполагается, что домены MRD, подходящие для настоящего изобретения, включают домены MRD, которые связываются с ангиогенными рецепторами, ангиогенными факторами и/или ангиопоэтином 2 Ang2. Согласно конкретному варианту реализации MRD согласно настоящему изобретению связывает Ang2.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанный связывающий TIE2 компонент содержит фрагмент ANG2, который связывает TIE2. Согласно конкретным вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении связывают TIE2 и содержат аминокислоты 283-449 ANG2 человека, приведенного в референсной последовательности NCBI № NP_001138.1. Согласно одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) свя-

зывает Ang2 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 136-619 и 620, приведенных в табл. 10. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание Ang2 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 136-619 и 620. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом Ang2, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 136-619 и 620.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает Ang2 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из

DCFYYPNPEWCY (ANG100; SEQ ID NO:621); KCPLLPDWASCH (ANG99; SEQ ID NO:622); TCQDYFWRVYCH (ANG53; SEQ ID NO:623); DCYF YPNPPHCY (ANG57; SEQ ID NO:624); PHEECYFYPNPPHCYTMS (ANG318; SEQ ID NO:625); DCAVYPNPPWCYKMEFGK (ANG202; SEQ ID NO: 626); RPILCPLLPDW ISCHEWL (ANG205; SEQ ID NO:627); и LWDDCYFFPNPPHCYNP (ANG200; SEQ ID NO:628).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание Ang2 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 621-627 и 628. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом Ang2, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 621-627 и 628.

Согласно одному варианту реализации MRD и/или MRD-содержащее антитело связывает Ang2 и содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из

GAQTNFMPMDLEQRLYEQFLLQGLE (SEQ ID NO:9) (ANGa); LWDDCYFFPNPPHCYNP (SEQ ID NO:11) (ANGb); LWDDCYSYPNPPHCYNP (SEQ ID NO:12) (ANGc); LWDDCYSFPNPPHCYNP (SEQ ID NO:15) (ANGd); DCAVYPNPPWCYKMEFGK (SEQ ID NO:16) (ANGe); PHEECYFY PNPPHCYTMS (SEQ ID NO:17) (ANGf); и PHEECYSYPNPPHCYTMS (SEQ ID NO:18) (ANGg).

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит связывающий ANG-2 пептид, раскрытый в патентах США №№ 7309483, 7205275, 7138370, 7063965, 7063840, 7045302, 7008781, 6825008, 6645484, 6627415, 6455035, 6441137, 6433143, 6265564, 6166185, 5879672, 5814464, 5681714, 5650490, 5643755 и 5521073; и опубликованных заявках на патент США №№ 2007/0225221, 2007/0093419, 2007/0093418, 2007/0072801, 2007/0025993, 2006/0122370, 2005/0186665, 2005/0175617, 2005/0106099, 2005/0100906, 2003/0236193, 2003/0229023, 2003/0166858, 2003/0166857, 2003/0162712, 2003/0109677, 2003/0092891, 2003/0040463, 2002/0173627 и 2002/0039992, и опубликованных международных заявках №№ WO 2006/005361, WO 2006/002854, WO 2004/092215, WO 2004/076650, WO 2003/057134, WO 2000/075323, WO 2000/065085, WO 1998/018914 или WO 1995/021866, содержание каждой из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит MRD, который преимущественно связывает ангиопозтин 2 (ANG2), а не ANG1 и ANG4. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит MRD, имеющий последовательность, выбранную из группы, состоящей из ANG100 (SEQ ID NO: 621), ANG156 (SEQ ID NO: 255), ANG318 (SEQ ID NO: 625) и ANG599 (SEQ ID NO: 367). Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит MRD, который преимущественно связывает ANG1 и ANG2, а не ANG4. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит MRD, имеющий последовательность, выбранную из группы, состоящей из ANG126 (SEQ ID NO: 232), ANG129 (SEQ ID NO: 234), ANG179 (SEQ ID NO: 270), ANG200 (SEQ ID NO: 628), ANG303 (SEQ ID NO: 331) и ANG335 (SEQ ID NO: 332). Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит MRD, который связывает ANG1, ANG2 и ANG4. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит MRD, имеющий последовательность ANG335 (SEQ ID NO: 332). MRD-содержащие антитела, которые конкурируют за связывание ANG1, ANG2 и/или ANG4 с одним или большим количеством из указанных выше доменов MRD и/или MRD-содержащих антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD нацелен на фактор роста эндотелия сосудов (ФРЭС). Согласно одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ФРЭС и содержит последовательность аминокислот,

выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 629-691 и 692, приведенных в табл. 11. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ФРЭС с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 629-691 и 692. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ФРЭС, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 629-691 и 692.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ФРЭС и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из

ACVKQVPWWLCI (VGF5; SEQ ID NO:693); TCWKPTPWWLCD (VGF26; SEQ ID NO:694); WCNGFPNYPYCY (VGF57; SEQ ID NO:695); GCVKEAPWWLCV (VGF61; SEQ ID NO:696); и WCNGFPANYPYCY (VGF50; SEQ ID NO:697).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ФРЭС с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 693-696 и 697. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ФРЭС, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 693-696 и 697. Согласно одному варианту реализации гибрид антитело-MRD содержит MRD с последовательностью ATWLPPP (SEQ ID NO: 71), который ингибирует ФРЭС-опосредованный ангиогенез. Binetruy-Tournaire et al., EMBO J. 19:1525-1533 (2000). Согласно дополнительным вариантам реализации настоящим изобретением охвачено антитело против ФРЭС, содержащее MRD, нацеленный на ФРЭС. Описание антител против ФРЭС можно найти, например, в источниках: Presta et al., Cancer Research 57:4593-4599 (1997); и Fuh et al., J. Biol. Chem. 281:10 6625 (2006), каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. В настоящем изобретении могут также применяться специфические в отношении рИФР-1 домены MRD. Согласно одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает рИФР-1 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 698-1149 и 1150, приведенных в табл. 12. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание рИФР-1 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из NO: 698-1149 и 1150. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом рИФР-1, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из NO: 698-1149 и 1150.

Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание рИФР-1 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из

LCKEFPELCF (ИФР-252; SEQ ID NO:1151); QPWEGYSWLY (IGF71; SEQ ID NO:1152); RITPSDLCKEFPELCF (IGF550; SEQ ID NO:1153); GFHHAYYKY RGQAGQGSATGGSSRITPSDLCKEFP ELCF (ИФР-2044; SEQ ID NO:1154); LCHGYPWYGPCQGQAGQGSATGGSGSTAS SRITPSDLCKEFPELCF (ИФР-2037; SEQ ID NO:1155); GSWCDHYPQPMCLGQAG QGSATGGSSRITPSDLCKEFPELCF (ИФР-2039 SEQ ID NO:1156); и TFENAL YCLAYGICDKITLI (ИФР-2045; SEQ ID NO:1157).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание рИФР-1 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1151-1156 и 1157. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом рИФР-1, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1151-1156 и 1157.

Предусматривается также применение в настоящем изобретении специфических в отношении сосудистого хоминг-пептида доменов MRD. В ряде исследований была описана эффективность соединения сосудистого хоминг-пептида с другими белками, подобными ИЛ-12, или с лекарственными средствами для их направленной доставки у живых животных.

Множество других сайтов связывания мишени включены в качестве мишеней гибридов антитело-MRD согласно настоящему изобретению, в том числе, например, рецептор ФРФ-1 (рФРФ-1), рецептор

ФРФ-2 (рФРФ-2), рЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, CD20, рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 и рецептор фактора роста гепатоцитов. Домены MRD могут быть направлены на указанные сайты связывания мишени или соответствующие лиганды.

Согласно одному варианту реализации указанный MRD связывается с ИЛ-6. Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ИЛ-6 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1158-1731 и 1732, приведенных в табл. 13. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ИЛ-6 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1158-1731 и 1732. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ИЛ-6, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1158-1731 и 1732.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ИЛ-6 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из

YCPWDPIMMQCA (ILB394; SEQ ID NO:1733); LSNSCAW DPLLMNCIDTH (ILB227; SEQ ID NO:1734); FNEDCMWDPLLMDCA YSP (ILB915; SEQ ID NO:1735); INNLSPVCYWDPLLMDCI (ILB235; SEQ ID NO:1736); VQY WEFETWEGQAGQGSFNEDCMWDPLLMDCA YSP (ILB914; SEQ ID NO:1737); HQADDPFGQWGQAGQGSFNEDCMWDPLLMDCA YSP (ILB910; SEQ ID NO:1738); PLWEQTKWQYGGQAGQGSFNEDCMWDPLLMDCA YSP (ILB916; SEQ ID NO:1739); FNEDCMWDPLLMDCA YSPGQGSATGGSAAAGGSMCLTYEEICS (ILB790; SEQ ID NO:1740); ISMPCH SWEHCLSL (ILB754; SEQ ID NO:1741); GWGRVCDADYCCWVVC (ILB753; SEQ ID NO:1742); EYDWCMWEVK MFEEACWSLS (ILB909; SEQ ID NO:1743); VLSECFEAYRVVCQALT (ILB913; SEQ ID NO:1744); MGIRCQTWDHCLSIL (ILB911; SEQ ID NO:1745); и QRYPCTTWEDCLVVL (ILB912; SEQ ID NO:1746).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ИЛ-6 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1733-1745 и 1746. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ИЛ-6, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1733-1745 и 1746.

Согласно одному варианту реализации указанный MRD связывается с рецептором ИЛ-6 (рИЛ-6). Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает рИЛ-6 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1747-1908 и 1909, приведенных в табл. 14. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ее) за связывание рИЛ-6 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1747-1908 и 1909. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом рИЛ-6, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1747-1908 и 1909.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает рИЛ-6 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из

DLLYCEWEMVVRECHGTI (ILC111; SEQ ID NO:1910); EFVLCCELAM
VFRECHGAV (ILC82; SEQ ID NO:1911); ELIFCDLEMVFNECHGAI (ILC85; SEQ ID
NO:1912); DYILCDLEMVFRECHGVL (ILC289; SEQ ID NO:1913);
EFILCELEMVIRECHGTT (ILC92; SEQ ID NO:1914); PCE EAF AAYLE (ILC110; SEQ
ID NO:1915); PCEEAF AAYLE EAYN (ILC134; SEQ ID NO:1916);
ACEEAFASYLEENVM (ILC100; SEQ ID NO:1917); DCNALFTGDLAW (ILC145;
SEQ ID NO:1918); DEEWTCFP TLC SLWSE (ILC51; SEQ ID NO:1919);
EEEWTCFPSLCTIWSQ (ILC163; SEQ ID NO:1920); EEEWTCFPYLCSDWLQ
(ILC168; SEQ ID NO:1921); EEEWTCFPYLCSEWVH (ILC235; SEQ ID NO:1922);
QEEWTCFPYLC SYWAQ (ILC217; SEQ ID NO:1923); GQDDCW PYYCDELEY
(ILC54 SEQ ID NO:1924); SCWTCIPEMVNCEAAH (ILC293; SEQ ID NO:1925);
YWAKCDYHEGW HNC ELHP (ILC296; SEQ ID NO:1926); VFWD CWYYGT
WIECENTG (ILC295; SEQ ID NO:1927); GDTPCQEW PYWCLPPY (ILC290; SEQ ID
NO:1928); HLISCEFHEKYVECVEVA (ILC291; SEQ ID NO:1929); STDYC
EVLEIQWVCYRPP (ILC294; SEQ ID NO:1930); и QIVECWTEMDWHNCVLF
(ILC292 SEQ ID NO:1931).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание рИЛ-6 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1910-1930 и 1931. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом рИЛ-6, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1910-1930 и 1931.

Согласно одному варианту реализации указанный MRD связывается с ИЛ-17а. Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ИЛ-17а и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1932-1989 и 1990, приведенной в табл. 15. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ИЛ-17а с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1932-1989 и 1990. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ИЛ-17а, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1932-1989 и 1990.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ИЛ-17а и содержит последовательность аминокислот LSLWCWLINDVNCSEPV (ILA72; SEQ ID NO: 1991) или NPLWCWMFPADDPC VHPG (ILA20; SEQ ID NO: 1992). Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ИЛ-17а с полипептидом, имеющим последовательность аминокислот SEQ ID NO: 1991 или SEQ ID NO: 1992. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ИЛ-17а, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 1991 или SEQ ID NO: 1992. Согласно одному варианту реализации указанный MRD связывается с TNFSF15 (TL1A). Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает TL1A и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1993-2234 и 2235, приведенных в табл. 16. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание TL1A с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1993-2234 и 2235. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом TL1A, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1993-2234 и 2235.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает TL1A и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из

QDRVCWDFHQKLQFCELSM (TLA525; SEQ ID NO:2236); YSSVCWDDTRE ALFYCETTV (TLA27; SEQ ID NO:2237); EYALCWVEAQEK LEWCKGLN (TLA522; SEQ ID NO:2238); DYEVCWDVHVDRLVYCDAPM (TLA523; SEQ ID NO:2239); STEVCWDFIEQKLIWCSTFR (TLA35; SEQ ID NO:2240); QSDVCW NQSHQLLQFCWESN (TLA54; SEQ ID NO:2241); и DYAVCWDPDYG NLVWCNVLS (TLA524; SEQ ID NO:2242).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание TL1A с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из 2236-2241 и 2242. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом TL1A, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2236-2241 и 2242. Согласно одному варианту реализации указанный MRD связывается с TNFSF13B (BLyS). Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает BLyS и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из

GDMGCWDWLTRTQVKCSLLV (BLY50; SEQ ID NO:2243); PRGTCWADPLT GQCQVQM (BLY47; SEQ ID NO:2244); PAGMCFDNLTLQMVQCTSLK (BLY35 SEQ ID NO:2245); GPWACYETPTRQMCVPVF (BLY69 SEQ ID NO:2246); ERKA CYFDPLVK QCLFVR (BLY60; SEQ ID NO:2247); TMPTCFMDPLTHQCWPSV (BLY34; SEQ ID NO:2248); HPGRCYDQLTYEWWTCWHLW (BLY31; SEQ ID NO:2249); RADLCYHEHN NNECFFGM (BLY73; SEQ ID NO:2250); и TGSSC WDILTKQMVPC LTAW (BLY27; SEQ ID NO:2251).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание BLyS с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 2243-2250 и 2251. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом BLyS, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2243-2250 и 2251.

Согласно одному варианту реализации указанный MRD связывается с HER2/3. Согласно еще одному варианту реализации указанный MRD связывает рЭФР. Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает рЭФР и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 2252-3090 и 3091, приведенных в табл. 17. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание рЭФР с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 2252-3090 и 3091. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом рЭФР, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2252-3090 и 3091.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает рЭФР и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из

LTAPCYWTTWGKECLMLR (EGA79; SEQ ID NO:3092); LNDNCYWTTWGRECYLLR (EGA191; SEQ ID NO:3093); FSDPCYWTTWGR ECFLLP (EGA214; SEQ ID NO:3094); LPEGCYWTTWGKECLLLP (EGA234; SEQ ID NO:3095); LPQGCWVTNWGKECYLPL (EGA626; SEQ ID NO:3096); LPEGCW WSQWGKECLLLP (EGA623; SEQ ID NO:3097); LPQECYWAHWGKECYLPP (EGA625; SEQ ID NO:3098); LPEGCWWAPWGKECLLHP (EGA673 SEQ ID NO:3099); LPEDCWWSTWGRECLLP (EGA990; SEQ ID NO:3100); ADSWCHTL YWQLHHCASWE (EGA349; SEQ ID NO:3101); EESLCHTLYRQLHNCRSLE (EGA406; SEQ ID NO:3102); ADSLCLTEYLELLQCERWE (EGA466; SEQ ID NO:3103); ADSLCQTRHQQLLD CERQE (EGA467; SEQ ID NO:3104); PESWCHTL

WNLQHCLSQE (EGA433; SEQ ID NO:3105); YAEHCWQFPTDWICTLMT (EGA518; SEQ ID NO:3106); YAEHCLMFPGDWICTLLP (EGA771; SEQ ID NO:3107); YASHCSQFPGDWICSLMT (EGA772; SEQ ID NO:3108); YAEHCRQFPSDWICTLLP (EGA797; SEQ ID NO:3109); YADHCSQFPNDWICTLLS (EGA926; SEQ ID NO:3110); YAEHCSLFPTDWICTLMS (EGA958; SEQ ID NO:3111); и YAEHCSQFPSDWICSLLS (EGA917; SEQ ID NO:3112).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание рЭФР с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 3092-3111 и 3112. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом рЭФР, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3092-3111 и 3112.

Согласно еще одному варианту реализации указанный MRD связывает ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ErbB2 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 3113-3494 и 3495, приведенных в табл. 18. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ErbB2 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 3113-3494 и 3495. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ErbB2, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3113-3494 и 3495.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ErbB2 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из

SAISCYVYQQHRHCDWDH (EGB417; SEQ ID NO:3496);
WSGYCEMKDHWANCGHSE (EGB390; SEQ ID NO:3497); и WSGYCETPSGWK
ACRGN1 (EGB858; SEQ ID NO:3498).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ErbB2 с полипептидом, имеющим последовательность аминокислот SEQ ID NO: 3496, SEQ ID NO: 3497 или SEQ ID NO: 3498. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ErbB2, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 3496, SEQ ID NO: 3497 или SEQ ID NO: 3498.

Согласно еще одному варианту реализации указанный MRD связывает ErbB3. Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ErbB3 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 3499-4086 и 4087, приведенных в табл. 19. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ErbB3 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 3499-4086 и 4087. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ErbB3, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3499-4086 и 4087.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ErbB3 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из

SSEYCPFLNPYWDQCMSRT (EGC1077; SEQ ID NO:4088);
SEPYCPFLNPTWKSQCIART (EGC180; SEQ ID NO:4089); SQVSCP
FQNPWWSHCMELM (EGC42; SEQ ID NO:4090); GSKPYCPFTNPIWYDECICKRS
(EGC593; SEQ ID NO:4091); ATEPYCPFLNPIWKAELARS (EGC503; SEQ ID
NO:4092); KFLMCQVYPSEKWHVCVETL (EGC41 SEQ ID NO:4093); и SKPYC
PFTNPIWYDECICKRSGGGSGGGSQAAAGGSYMHEPHMQVLEIMN (EGC1086;
SEQ ID NO:4094).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ErbB3 с полипептидом, содержащим по-

последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 4088-4093 и 4094. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ErbB3, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4088-4093 и 4094.

В настоящем изобретении могут также применяться специфические в отношении рецептора инсулиноподобного фактора роста-1 (ErbB4) домены MRD. Согласно одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ErbB4 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 4095-4123 и 4124, приведенных в табл. 20. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ErbB4 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 4095-4123 и 4124. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ErbB4, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 4095-4123 и 4124. Согласно еще одному варианту реализации указанный MRD связывает рецептор суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNFRSF) 10B (DR5). Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает DR5 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4125-4319 и 4320, приведенных в табл. 21. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание DR5 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 4125-4319 и 4320. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом DR5, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4125-4319 и 4320.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает DR5 и содержит последовательность аминокислот WDCLGKLGQR QCVKL (DR5218; SEQ ID

NO:4321) или FPRPCAEEDVIMTCRWV (DR53; SEQ ID NO:4322).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание DR5 с полипептидом, имеющим последовательность аминокислот SEQ ID NO: 4321 или SEQ ID NO: 4322. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом DR5, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 4321 или SEQ ID NO: 4322. Как продемонстрировано в настоящем документе увеличение валентности нацеленных на DR5 доменов MRD в MRD-содержащем антителе приводит к соответствующему повышению опосредованной DR-5 клеточной цитотоксичности (см. пример 46). Соответственно, согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD-содержащее антитело, которое содержит по меньшей мере 4, по меньшей мере 6, по меньшей мере 8 или по меньшей мере 10 доменов MRD, которые связывают DR5. Кроме того, как продемонстрировано в настоящем документе, увеличение количества эпитопов при таргетинге мишени, отличной от DR5 (например, ErbB2 и рЭФР) в связывающем DR5 MRD-содержащем антителе коррелирует с повышенной опосредованной DR5 клеточной цитотоксичностью. Соответственно, согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD-содержащее антитело, которое связывает DR5 и по меньшей мере два отдельных эпитопа мишени, отличной от DR5. Более того, как продемонстрировано в настоящем документе, антитело-скаффолд связывающего DR5 MRD-содержащего антитела влияет на уровень опосредованной DR5 клеточной цитотоксичности MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт связывающего DR5 MRD-содержащего антитела связывает молекулу на поверхности целевой клетки, экспрессирующей DR5. Согласно дополнительному варианту реализации указанный антитело-комбинирующий сайт MRD-содержащего антитела связывает молекулу на поверхности клетки, а домены MRD MRD-содержащего антитела связывают DR5 через один или большее количество эпитопов с валентностью, составляющей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более. Согласно альтернативным вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт связывающего DR5 MRD-содержащего антитела не связывается с молекулой на поверхности целевой клетки, которая экспрессирует на поверхности DR5. Согласно дополнительному варианту реализации указанный антитело-комбинирующий сайт MRD-содержащего антитела не связывает молекулу на поверхности целевой клетки, а домены MRD MRD-содержащего антитела связывают DR5 через один или большее количество эпитопов с валентностью, составляющей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более.

Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или

MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает DR4 (TNFRSF10A/TRAIL R1). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере 4, по меньшей мере 6, по меньшей мере 8 или по меньшей мере 10 доменов MRD, которые связывают DR4 (TNFRSF10A/TRAIL R1). Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD-содержащее антитело, которое связывает DR4 и по меньшей мере два отдельных эпитопа мишени, отличной от DR4. Согласно некоторым вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт связывающего DR4 MRD-содержащего антитела связывает молекулу на поверхности целевой клетки, экспрессирующей DR4. Согласно дополнительному варианту реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывает молекулу на поверхности клетки, а домены MRD MRD-содержащего антитела связывают DR4 через один или большее количество эпитопов с валентностью, составляющей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более. Согласно альтернативным вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт связывающего DR4 MRD-содержащего антитела не связывается с молекулой на поверхности целевой клетки, которая экспрессирует на поверхности DR4. Согласно дополнительному варианту реализации антитело-комбинирующий сайт MRD-содержащего антитела не связывает молекулу на поверхности целевой клетки, а домены MRD MRD-содержащего антитела связывают DR4 через один или большее количество эпитопов с валентностью, составляющей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более.

Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD-содержащее антитело, которое связывает сигнальную молекулу клеточной поверхности. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере 4, по меньшей мере 6, по меньшей мере 8 или по меньшей мере 10 доменов MRD, которые связывают сигнальную молекулу клеточной поверхности. Согласно конкретным вариантам реализации указанная сигнальная молекула клеточной поверхности выбрана из с-Met, рЭФР, ErbB2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рецептора ФРФ-3 (рФРФ-3), α-рецептора тромбоцитарного фактора роста (рТцФР-A), β-рецептора тромбоцитарного фактора роста (рТцФР-B), нетрина, CD28, рецептора 1A суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNFRSF1A, TNFR1, p55, p60), рецептора суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 1B (TNFRSF1B, TNFR2), TNFRSF 6 (Fas, CD95), TNFRSF 21 или TNFRSF 25, TNFRSF 7 (CD27), TNFRSF 8 (CD30), TNFRSF 11A (RANK), TNFRSF21 (DR6), TNFRSF25 (DR3) и LRP6. Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD-содержащее антитело, которое связывает сигнальную молекулу клеточной поверхности и по меньшей мере два отдельных эпитопа мишени, отличной от сигнальной молекулы клеточной поверхности. Согласно некоторым вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт MRD-содержащего антитела связывает молекулу на поверхности целевой клетки, экспрессирующей сигнальную молекулу клеточной поверхности. Согласно дополнительному варианту реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывает молекулу на поверхности клетки, а домены MRD MRD-содержащего антитела связывают сигнальную молекулу клеточной поверхности через один или большее количество эпитопов с валентностью, составляющей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более. Согласно альтернативным вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт связывающего сигнальную молекулу клеточной поверхности MRD-содержащего антитела не связывается с молекулой на поверхности целевой клетки, которая экспрессирует сигнальную молекулу клеточной поверхности. Согласно дополнительному варианту реализации указанный антитело-комбинирующий сайт MRD-содержащего антитела не связывает молекулу на поверхности целевой клетки, а домены MRD MRD-содержащего антитела связывают сигнальную молекулу клеточной поверхности через один или большее количество эпитопов с валентностью, составляющей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более.

Согласно еще одному варианту реализации MRD связывает CD19. Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает CD19 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из

STLTCQVWLEDWYECIEVD (CDA1; SEQ ID NO:4323); PNWVCWET
PWTYECLEIE (CDA16; SEQ ID NO:4324); VLLH CFGEPQWMECVPYV (CDA26;
SEQ ID NO:4325); FSPFCQYFQEFGECHYLS (CDA33; SEQ ID NO:4326); LLLRCM
YEPYYWELQCVEVE (CDA48; SEQ ID NO:4327); и YIYTCSFIWDYQEIYCSP
(CDA53; SEQ ID NO:4328).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание CD19 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 4323-4327 и 4328. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом CD19, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4323-4327 и 4328.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD связывается с белком человека. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD связывается и с белком человека, и его ортологом у мыши, крысы, кролика или хомяка.

III. Антитела.

Антитело в мультивалентных и мультиспецифических композициях (например, MRD-содержащих антителах), описанных в настоящем документе, может представлять собой любой подходящий антиген-связывающий иммуноглобулин. Согласно определенным вариантам реализации молекулы MRD-содержащего антитела, описанные в настоящем документе, сохраняют структурные и функциональные характеристики традиционных моноклональных антител. Соответственно, указанные антитела сохраняют связывающие свойства в отношении эпитопов, но также благоприятным образом обладают одной или большим числом дополнительных видов связывающей специфичности в отношении мишени. Антитела, которые могут применяться в мультивалентных и мультиспецифических композициях (например, MRD-содержащих антителах), включают, не ограничиваясь перечисленными, моноклональные антитела, мультиспецифические антитела, антитела человека, гуманизированные, приматизированные и гибридные антитела. Молекулы иммуноглобулина или антитела согласно настоящему изобретению могут относиться к любому типу (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), классу (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подклассу молекул иммуноглобулина. Согласно конкретным вариантам реализации указанные антитела представляют собой IgG1. Согласно другим конкретным вариантам реализации указанные антитела представляют собой IgG3.

Антитела, которые могут применяться в качестве части указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), могут быть получены естественным путем или в результате применения рекомбинантной инженерии (например, фагового дисплея, мышей Xenomouse и синтетических методов). Указанные антитела могут содержать модификации, например, для увеличения периода полувыведения или для усиления или ослабления активности антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) и/или комплементзависимой цитотоксичности (КЗЦ). Антитела могут принадлежать любым животным или происходить от любых животных, включая птиц и млекопитающих, или быть получены синтетическим путем. Согласно некоторым вариантам реализации указанные антитела представляют собой антитела человека, мыши, осла, кролика, козы, морской свинки, верблюда, ламы, лошади или курицы. Согласно конкретным вариантам реализации указанные антитела представляют собой антитела человека.

Согласно определенным вариантам реализации фрагменты тяжелой цепи одной полипептидной цепи мультимера идентичны фрагментам тяжелой цепи второй полипептидной цепи указанного мультимера. Согласно альтернативным вариантам реализации мономеры, содержащие фрагменты тяжелой цепи согласно настоящему изобретению, не идентичны. Например, все мономеры могут содержать разные сайты связывания мишени, образуя, например, биспецифические антитела. Биспецифические бивалентные антитела и способы их получения описаны, например, в патентах США №№ 5731168, 5807706, 5821333 и опубликованных заявках на патент США №№ 2003/020734 и 2002/015537, каждый(ая) из которых полностью включен(а) в настоящий документ посредством ссылки. Биспецифические тетравалентные антитела и способы их получения описаны, например, в международных заявках на патент №№ WO 02/096948 и WO 00/44788, содержание которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. См., в целом, международные заявки на патент №№ WO 93/17715, WO 92/08802, WO 91/00360 и WO 92/05793; Tutt et al., J. Immunol. 147:60-69 (1991); патенты США №№ 4474893; 4714681; 4925648; 5573920; и 5601819; и Kostelny et al., J. Immunol. 148:1547-1553 (1992).

Фрагменты тяжелой цепи антитела-компонента гибридов MRD-антитело для применения в способах, раскрытых в настоящем документе, могут происходить из разных молекул иммуноглобулина. Например, фрагмент тяжелой цепи полипептида может содержать домен CH1, который происходит из молекулы IgG1, и шарнирную область, которая происходит из молекулы IgG3. Согласно другому примеру фрагмент тяжелой цепи может содержать шарнирную область, происходящую частично из молекулы IgG1 и частично из молекулы IgG3. Согласно другому примеру фрагмент тяжелой цепи может содержать гибридную шарнирную область, происходящую частично из молекулы IgG1 и частично из молекулы IgG4. Согласно некоторым вариантам реализации указанные антигенсвязывающие домены антитела-компонента указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) связываются со своей мишенью с константой диссоциации, или K_d, составляющей менее чем 5×10^{-3} М, 10^{-3} М, 5×10^{-4} М, 10^{-4} М, 5×10^{-5} М, 10^{-5} М, 5×10^{-6} М, 10^{-6} М, 5×10^{-7} М, 10^{-7} М, 5×10^{-8} М, 10^{-8} М, 5×10^{-9} М, 10^{-9} М, 5×10^{-10} М, 10^{-10} М, 5×10^{-11} М, 10^{-11} М, 5×10^{-12} М, 10^{-12} М, 5×10^{-13} М, 10^{-13} М, 5×10^{-14} М, 10^{-14} М, 5×10^{-15} М или 10^{-15} М. Согласно одному варианту реализации антитело-компонент указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) имеют константу диссоциации, или K_d, составляющую менее чем 5×10^{-5} М. Согласно еще одному варианту реализации связывание антигена антителом-компонентом указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) имеет константу диссоциации, или K_d, составляющую менее чем 5×10^{-8} М. Согласно еще одному варианту реали-

зации связывание антигена антителом-компонентом указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) имеет константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-9} М. Согласно еще одному варианту реализации антитело-компонент указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-10} М. Согласно еще одному варианту реализации антитело-компонент указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-11} М. Согласно еще одному варианту реализации антитело-компонент указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-12} М. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает мишень со скоростью диссоциации (k_{off}), составляющей менее $5 \times 10^{-2} \text{ с}^{-1}$, 10^{-2} с^{-1} , $5 \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ или 10^{-3} с^{-1} . Предпочтительнее антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает мишень со скоростью диссоциации (k_{off}), составляющей менее $5 \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$, 10^{-4} с^{-1} , $5 \times 10^{-5} \text{ с}^{-1}$ или 10^{-5} с^{-1} , $5 \times 10^{-6} \text{ с}^{-1}$, 10^{-6} с^{-1} , $5 \times 10^{-7} \text{ с}^{-1}$ или 10^{-7} с^{-1} .

Согласно другим конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает мишень со скоростью связывания (k_{on}), составляющей более $10^3 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$, $5 \times 10^3 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$, $10^4 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$ или $5 \times 10^4 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$. Предпочтительнее, антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает мишень со скоростью связывания (k_{on}), составляющей более $10^5 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$, $5 \times 10^5 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$, $10^6 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$ или $5 \times 10^6 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$ или $10^7 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$.

Стратегии аффинного созревания и шаффлинга цепей (например, шаффлинга генов, шаффлинга мотивов, шаффлинга экзонов и/или шаффлинга кодонов (в совокупности называемые "шаффлингом ДНК") известны в данной области техники и могут применяться для обеспечения высокой аффинности и/или для изменения активности (например, АЗКЦ и КЗЦ) мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител)). См., например, источники патенты США №№ 5605793, 5811238, 5830721, 5834252 и 5837458; и Patten et al., *Curr. Opin. Biotechnol.* 8:724-733 (1997), Narayana, *Trends Biotechnol.* 16(2):76-82 (1998), Hansson et al., *J. Mol. Biol.* 287:265-276 (1999) и Lorenzo and Blasco, *Biotechniques* 24(2):308-313 (1998); каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Благоприятным образом, стратегии аффинного созревания и стратегии шаффлинга цепей могут рутинно использоваться для получения мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), которые могут также включать варианты и производные, улучшающие функцию и/или нужные фармакодинамические свойства антитела.

Соответственно, определенные варианты реализации настоящего изобретения включают гибриды антитело-MRD, в котором по меньшей мере часть одного или большего количества доменов константной области были изменены таким образом, чтобы обеспечивать требуемые биохимические характеристики, такие как пониженные или повышенные эффекторные функции, способность к нековалентной димеризации, повышенная способность к локализации в области опухоли, уменьшенный период полувыведения в сыворотке или увеличенный период полувыведения в сыворотке по сравнению с неизменным антителом, обладающим приблизительно такой же иммунореактивностью. Изменения доменов константной области могут представлять собой замены, вставки или удаления аминокислот. "Антителозависимая клеточная цитотоксичность", или "АЗКЦ", относится к форме цитотоксичности, при которой секретируемый Ig, связанный с Fc-рецепторами (FcR), экспрессируемых на определенных цитотоксических клетках (например, естественные клетки киллеры (NK), нейтрофилы и макрофаги), позволяет указанным цитотоксическим эффекторным клеткам локализоваться возле несущей антиген целевой клетки и затем убивать целевую клетку цитотоксинами. Специфические высокоаффинные IgG-антитела, нацеленные на поверхность целевых клеток, "вооружают" цитотоксические клетки и необходимы для такого киллинга. Лизис целевой клетки является внеклеточным, требует контакта или плотного сближения цитотоксических клеток и целевых клеток, и не включает комплемент.

Предполагается, что в настоящем документе термин "усиливает АЗКЦ" (например, в отношении клеток) включает любое измеряемое увеличение лизиса клеток при контакте с вариантом MRD-содержащего антитела по сравнению с киллингом клеток при контакте с MRD-содержащим антителом, которое не было модифицировано изменением АЗКЦ способом, в присутствии эффекторных клеток (например, при отношении целевых клеток к эффекторным клеткам, составляющем 1:50), например, увеличение лизиса клеток по меньшей мере приблизительно на 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300 или 325%.

Согласно определенным вариантам реализации антитело-компонент гибрида антитело-MRD модифицировано таким образом, чтобы увеличивать антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) (см., например, источники Bruhns et al., *Blood* 113:3716-3725 (2009); Shields et al., *J. Biol. Chem.* 276:6591-6604 (2001); Lazar et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:4005-4010 (2006); Stavenhagen et al., *Cancer Res.* 67:8882-8890 (2007); Horton et al., *Cancer Res.* 68:8049-8057 (2008); Zalevsky et al., *Blood* 113:3735-3743 (2009); Bruckheimer et al., *Neoplasia* 11:509-517 (2009); Allan et al., WO 2006/020114; Strohl, *Curr. Op. Bio-*

technol. 20:685-691 (2009); и Watkins et al., WO 2004/074455, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Примеры сконструированных модификаций последовательности Fc, содержащейся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, которые усиливают АЗКЦ, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих IgG1-S298A, E333A, K334A; IgG1-S239D, I332E; IgG1-S239D, A330L, I332E; IgG1-P247I, A339D или Q; IgG1-D280H, K290S - с S298D или V или без S298D или V; IgG1-F243L, R292P, Y300L; IgG1-F243L, R292P, Y300L, P396L и IgG1-F243L, R292P, Y300L, V305I, P396L; нумерация остатков Fc-области соответствует EU-индексу согласно системе Kabat.

Согласно одному варианту реализации вариант белка Fc обладает повышенной АЗКЦ-активностью по сравнению с сопоставляемой молекулой. Согласно конкретному варианту реализации вариант белка Fc обладает АЗКЦ-активностью, по меньшей мере в 2 раза, или по меньшей мере в 3 раза, или по меньшей мере в 5 раз, или по меньшей мере в 10 раз, или по меньшей мере в 50 раз, или по меньшей мере в 100 раз превышающей АЗКЦ-активность сопоставляемой молекулы. Согласно еще одному конкретному варианту реализации связывание варианта белка Fc с Fc-рецептором Fc-γ-IIA усилено, и он обладает повышенной АЗКЦ-активностью по сравнению с сопоставляемой молекулой. Согласно другим вариантам реализации указанный вариант белка Fc и обладает повышенной АЗКЦ-активностью, и имеет увеличенный период полувыведения в сыворотке по сравнению с сопоставляемой молекулой.

Способность любого конкретного варианта белка Fc опосредовать лизис целевой клетки путем АЗКЦ может быть проанализирована с применением известного в данной области техники способа. Например, для оценки АЗКЦ-активности мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) может быть добавлена к целевым клеткам в комбинации с иммунными эффекторными клетками, которые могут активироваться комплексами антиген-антитело, что приводит к цитолизу целевой клетки. Цитоллиз детектируют, как правило, по высвобождению метки (например, радиоактивных субстратов, флуоресцентных красителей или природных внутриклеточных белков) из лизированных клеток. Подходящие эффекторные клетки для таких анализов включают мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) и естественные клетки киллеры (NK). Конкретные примеры анализов АЗКЦ *in vitro* описаны у Wisecarver et al., J. Immunol. Methods 79:277-282 (1985); Bruggemann et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987); Wilkinson et al., J. Immunol. Methods 258:183-191 (2001); Patel et al., J. Immunol. Methods 184:29-38 (1995). Как альтернативный вариант или дополнительно, АЗКЦ-активность указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащее антитело) может оцениваться *in vivo*, например, в модели на животных, например, раскрытых у Clynes et al., PNAS USA 95:652-656 (1998) и в патенте США № 7662925. Согласно определенным вариантам реализации антитело-компонент гибрида антитело-MRD был модифицирован таким образом, чтобы уменьшать АЗКЦ (см., например, источники Idusogie et al., J. Immunol. 166:2571-2575 (2001); Sazinsky et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:20167-20172 (2008); Davis et al., J. Rheumatol. 34:2204-2210 (2007); Bolt et al., Eur. J. Immunol. 23:403-411 (1993); Alegre et al., Transplantation 57:1537-1543 (1994); Xu et al., Cell Immunol. 200:16-26 (2000); Cole et al., Transplantation 68:563-571 (1999); Hutchins et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:11980-11984 (1995); Reddy et al., J. Immunol. 164:1925-1933 (2000); Int. Appl. публ. № WO 1997/11971 и WO 2007/106585; опубликованная заявка на патент США 2007/0148167 A1; McEarchern et al., Blood 109:1185-1192 (2007); Strohl, Curr. Op. Biotechnol. 20:685-691 (2009); и Kumagai et al., J. Clin. Pharmacol. 47:1489-1497 (2007), каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Примеры сконструированных модификаций последовательностей Fc, содержащихся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, уменьшающих АЗКЦ, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих IgG1-K326W, E333S; IgG2-E333S; IgG1-N297A; IgG1-L234A, L235A; IgG2-V234A, G237A; IgG4-L235A, G237A, E318A; IgG4-S228P, L236E; последовательность 118-260 IgG2 по EU; последовательность IgG4 261-447 по EU; IgG2-H268Q, V309L, A330S, A331S; IgG1-C220S, C226S, C229S, P238S; IgG1-C226S, C229S, E233P, L234V, L235A и IgG1-L234F, L235E, P331S.

Согласно определенным вариантам реализации антитело-компонент гибрида антитело-MRD модифицирован для увеличения антитело-зависимого клеточного фагоцитоза (АЗКФ); (см., например, источники Shields et al., J. Biol. Chem. 276:6591-6604 (2001); Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4005-4010 (2006); Stavenhagen et al., Cancer Res., 67:8882-8890 (2007); Richards et al., Mol. Cancer Ther. 7:2517-2527 (2008); Horton et al., Cancer Res. 68:8049-8057 (2008), Zalevsky et al., Blood 113:3735-3743 (2009); Bruckheimer et al., Neoplasia 11:509-517 (2009); Allan et al., WO 2006/020114; Strohl, Curr. Op. Biotechnol. 20:685-691 (2009); и Watkins et al., WO 2004/074455, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Примеры сконструированных модификаций последовательностей Fc, содержащихся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, которые увеличивают АЗКФ, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих IgG1-S298A, E333A, K334A; IgG1-S239D, I332E; IgG1-S239D, A330L, I332E; IgG1-P247I, A339D или Q; IgG1-D280H, K290S и S298D или V, или без S298D или V; IgG1-F243L, R292P, Y300L; IgG1-F243L, R292P, Y300L, P396L; IgG1-F243L, R292P, Y300L, V305I, P396L; IgG1-G236A, S239D, I332E. Согласно определенным вариантам реализации антитело-компонент гибрида антитело-MRD было модифицировано для уменьшения АЗКФ (см., напри-

мер, источники: Sazinsky et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:20167-20172 (2008); Davis et al., J. Rheumatol. 34:2204-2210 (2007); Bolt et al., Eur. J. Immunol. 23:403-411 (1993); Alegre et al., Transplantation 57:1537-1543 (1994); Xu et al., Cell Immunol. 200:16-20 (2000); Cole et al., Transplantation 68:563-571 (1999); Hutchins et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:11980-11984 (1995); Reddy et al., J. Immunol. 164:1925-1933 (2000); опубликованные международные заявки №№ WO 1997/11971 и WO 2007/106585; опубликованная заявка на патент США 2007/0148167; McEarchern et al., Blood 109:1185-1192 (2007); Strohl, Curr. Op. Biotechnol. 20:685-691 (2009); и Kumagai et al., J. Clin. Pharmacol. 47:1489-1497 (2007), каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Примеры сконструированных модификаций последовательностей Fc, содержащихся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, которые уменьшают АЗКЦ, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих IgG1-N297A, IgG1-L234A, L235A; IgG2-V234A, G237A; IgG4-L235A, G237A, E318A; IgG4-S228P, L236E; последовательность IgG2 118-260 по EU; последовательность IgG4 261-447 по EU; IgG2-H268Q, V309L, A330S, A331S; IgG1-C220S, C226S, C229S, P238S; IgG1-C226S, C229S, E233P, L234V, L235A; и IgG1-L234F, L235E, P331S.

"Комплементзависимая цитотоксичность" и "КЗЦ" относятся к лизису целевой клетки в присутствии комплемента. Путь активации комплемента запускается связыванием первого компонента системы комплемента (C1q) с молекулой, например, антителом, образующим комплекс с когнатным антигеном. Для оценки активации комплемента может быть выполнен анализ КЗЦ, например, согласно описанию у Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996). Согласно одному варианту реализации вариант белка Fc обладает повышенной КЗЦ-активностью по сравнению с сопоставляемой молекулой. Согласно конкретному варианту реализации вариант белка Fc обладает КЗЦ-активностью, по меньшей мере в 2 раза, или по меньшей мере в 3 раза, или по меньшей мере в 5 раз, или по меньшей мере в 10 раз, или по меньшей мере в 50 раз, или по меньшей мере в 100 раз превышающей активность сопоставляемой молекулы. Согласно другим вариантам реализации указанный вариант белка Fc и обладает усиленной КЗЦ-активностью и имеет увеличенный период полувыведения в сыворотке по сравнению с сопоставляемой молекулой.

Согласно определенным вариантам реализации антитело-компонент гибридов антитело-MRD было модифицировано для повышения комплементзависимой цитотоксичности (КЗЦ) (см., например, источники Idusogie et al., J. Immunol. 166:2571-2575 (2001); Strohl, Curr. Op. Biotechnol. 20:685-691 (2009); и Natsume et al., Cancer Res. 68:3863-3872 (2008), каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Примеры сконструированных модификаций последовательностей Fc, содержащихся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, которые увеличивают КЗЦ, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих IgG1-K326A, E333A и IgG1-K326W, E333S, IgG2-E333S.

Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложены составы, Fc-область в которых содержит не встречающийся в природе остаток аминокислоты в одном или большем количестве положений, выбранных из группы, состоящей из 234, 235, 236, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 252, 254, 256, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 269, 296, 297, 298, 299, 313, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 332, 333 и 334 согласно EU-индексу в системе Kabat. Fc-область может, необязательно, содержать не встречающийся в природе остаток аминокислоты в дополнительных и/или альтернативных положениях, известных специалисту в данной области техники (см., например, патенты США №№ 5624821, 6277375 и 6737056; и международные заявки на патент №№ WO 01/58957, WO 02/06919, WO 04/016750, WO 04/029207, WO 04/035752 и WO 05/040217).

Согласно конкретным вариантам реализации MRD-содержащие антитела согласно настоящему изобретению содержат вариант Fc, содержащий по меньшей мере один не встречающийся в природе остаток аминокислоты, выбранный из группы, состоящей из 234D, 234E, 234N, 234Q, 234T, 234H, 234Y, 234I, 234V, 234F, 235A, 235D, 235R, 235W, 235P, 235S, 235N, 235Q, 235T, 235H, 235Y, 235I, 235V, 235F, 236E, 239D, 239E, 239N, 239Q, 239F, 239T, 239H, 239Y, 240I, 240A, 240T, 240M, 241W, 241L, 241Y, 241E, 241R, 243W, 243L, 243Y, 243R, 243Q, 244H, 245A, 247V, 247G, 252Y, 254T, 256E, 262I, 262A, 262T, 262E, 263I, 263A, 263T, 263M, 264L, 264I, 264W, 264T, 264R, 264F, 264M, 264Y, 264E, 265G, 265N, 265Q, 265Y, 265F, 265V, 265I, 265L, 265H, 265T, 266I, 266A, 266T, 266M, 267Q, 267L, 269H, 269Y, 269F, 269R, 296E, 296Q, 296D, 296N, 296S, 296T, 296L, 296I, 296H, 296G, 297S, 297D, 297E, 298H, 298I, 298T, 298F, 299I, 299L, 299A, 299S, 299V, 200H, 299F, 299E, 313F, 325Q, 325L, 325I, 325D, 325E, 325A, 325T, 325V, 325H, 327G, 327W, 327N, 327L, 328S, 328M, 328D, 328E, 328N, 328Q, 328F, 328I, 328V, 328T, 328H, 328A, 329F, 329H, 329Q, 330K, 330G, 330T, 330C, 330L, 330Y, 330V, 330I, 330F, 330R, 330H, 332D, 332S, 332W, 332F, 332E, 332N, 332Q, 332T, 332H, 332Y и 332A согласно EU-индексу в системе Kabat. Необязательно Fc-область может содержать дополнительные и/или альтернативные не встречающиеся в природе остатки аминокислот, известные специалисту в данной области техники (см., например, патенты США №№ 5624821, 6277375 и 6737056; и международные заявки на патент №№ WO 01/58957, WO 02/06919, WO 04/016750, WO 04/029207, WO 04/035752 и WO 05/040217).

Согласно определенным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция представляет собой гибриды антитело-MRD, где компонент-антитело был

модифицирован для усиления ингибирующего связывания с рецептором Fc- γ -IB (см., например, Chu et al., *Mol. Immunol.* 45:3926-3933 (2008)). Примером сконструированных модификаций последовательности Fc, содержащихся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, которые увеличивают связывание с ингибирующим рецептором Fc- γ -Ib, является IgG1-S267E, L328F.

Согласно определенным вариантам реализации антитело-компонент гибридов антитело-MRD были модифицированы таким образом, чтобы уменьшать КЗЦ (см., например, международные заявки на патент №№ WO 1997/11971 и WO 2007/106585; опубликованную заявку на патент США № 2007/0148167 A1; McEarchern et al., *Blood* 109:1185-1192 (2007); Hayden-Ledbetter et al., *Clin. Cancer* 15:2739-2746 (2009); Lazar et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:4005-4010 (2006); Bruckheimer et al., *Neoplasia* 11:509-517 (2009); Strohl, *Curr. Op. Biotechnol.* 20:685-691 (2009); и Sazinsky et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105:20167-20172 (2008); каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Примеры сконструированных модификаций последовательностей Fc, содержащихся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, которые уменьшают КЗЦ, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих IgG1-S239D, A330L, I332E; последовательность 118-260 IgG2 по EU; последовательность 261-447IgG4 по EU; IgG2-H268Q, V309L, A330S, A331S; IgG1-C226S, C229S, E233P, L234V, L235A; IgG1-L234F, L235E, P331S и IgG1-C226S, P230S.

Период полувыведения IgG опосредован его pH-зависимым связыванием с неонатальным рецептором FcRn. Согласно определенным вариантам реализации антитело-компонент гибрида антитело-MRD модифицировано таким образом, чтобы усиливать связывание с FcRn (см., например, источники Petkova et al., *Int. Immunol.* 18:1759-1769 (2006); Dall'Acqua et al., *J. Immunol.* 169:5171-5180 (2002); Oganessian et al., *Mol. Immunol.* 46:1750-1755 (2009); Dall'Acqua et al., *J. Biol. Chem.* 281:23514-23524 (2006), Hinton et al., *J. Immunol.* 176:346-356 (2006); Datta-Mannan et al., *Drug Metab. Dispos.* 35:86-94 (2007); Datta-Mannan et al., *J. Biol. Chem.* 282:1709-1717 (2007); межд. опублик. заявка № WO 2006/130834; Strohl, *Curr. Op. Biotechnol.* 20:685-691 (2009); и Yeung et al., *J. Immunol.* 182:7663-7671 (2009); каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело в гибриде антитело-MRD модифицировано таким образом, чтобы селективно связывать FcRn при pH 6,0, не при pH 7,4. Примеры сконструированных модификаций последовательностей Fc, содержащихся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, которые увеличивают период полувыведения, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих IgG1-M252Y, S254T, T256E; IgG1-T250Q, M428L; IgG1-H433K, N434Y; IgG1-N434A и IgG1-T307A, E380A, N434A. Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент гибрида антитело-MRD модифицировано таким образом, чтобы уменьшать связывание с FcRn (см., например, источники, Petkova et al., *Int. Immunol.* 18:1759-1769 (2006); Datta-Mannan et al., *Drug Metab. Dispos.* 35:86-94 (2007); Datta-Mannan et al., *J. Biol. Chem.* 282:1709-1717 (2007); Strohl, *Curr. Op. Biotechnol.* 20:685-691 (2009) и Vaccaro et al., *Nat. Biotechnol.* 23:1283-1288 (2005), каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Примеры сконструированных модификаций последовательностей Fc, содержащихся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, уменьшающих период полувыведения, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих IgG1-M252Y, S254T, T256E; H433K, N434F, 436N; IgG1-I253A и IgG1-P257I, N434H или D376V, N434H. Согласно некоторым вариантам реализации указанные гибриды антитело-MRD были получены с использованием гликоинженерии, или Fc-фрагмент MRD-содержащего антитела был мутирован для усиления эффекторной функции с применением техник, известных в данной области техники. Например, инактивация (посредством точечных мутаций или другим способом) домена константной области может уменьшать связывание Fc-рецептором циркулирующего модифицированного антитела, таким образом улучшая локализацию в опухоли. В других случаях модификации константной области, согласующиеся с настоящим изобретением, могут ослаблять связывание комплемента и соответственно уменьшать период полувыведения в сыворотке и неспецифическое связывание конъюгированного цитотоксина. Могут использоваться и другие модификации константной области для модификации дисульфидных связей или олигосахаридных фрагментов, обеспечивающие лучшую локализацию за счет повышенной антигенспецифичности или гибкости антитела. Полученный физиологический профиль, биодоступность и другие биохимические эффекты указанных модификаций, такие как локализация в опухоли, биораспределение и период полувыведения в сыворотке, может легко быть измерено и количественно определено с применением хорошо известных иммунологических техник без излишних экспериментов.

Способы получения антител, содержащих не встречающиеся в природе Fc-области, известны в данной области техники. Например, замены и/или удаления аминокислот могут быть получены путем мутагенеза, в том числе, но не ограничиваясь перечисленными, сайт-специфического мутагенеза (Kunkel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:488-492 (1985)), ПЦР-мутагенеза (Higuchi, "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications", Academic Press, San Diego, pp. 177-183 (1990)) и касетного мутагенеза (Wells et al., *Gene* 34:315-323 (1985)). Сайт-специфический мутагенез может быть выполнен методом ПЦР с перекрывающимися праймерами (Higuchi, "PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification", Stockton Press, New York, pp. 61-70 (1989)). Как вариант, может применяться техника ПЦР с перекры-

вающимися праймерами (Higuchi, там же) для введения любой(ых) требуемой(ых) мутации(ий) в целевую последовательность (стартовая ДНК). В данной области техники известны другие способы, подходящие для получения антител, содержащих не встречающийся в природе Fc-области (см., например, патенты США №№ 5624821, 5885573, 5677425, 6165745, 6277375, 5869046, 6121022, 5624821, 5648260, 6528624, 6194551, 6737056, 6821505 и 6277375; опубликованную заявку на патент США № 2004/0002587 и опубликованные международные заявки №№ WO 94/29351, WO 99/58572, WO 00/42072, WO 02/060919, WO 04/029207, WO 04/099249 и WO 04/063351).

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), применяемые в соответствии со способами, предложенными в настоящем изобретении, также включают производные, модифицированные, например, путем ковалентного присоединения к антителу молекулы любого типа таким образом, что указанное ковалентное присоединение не предотвращает специфическое связывание антитела с его когнатным эпитопом. Например, но без ограничения, производные антитела включают антитела, которые были модифицированы, например, путем гликозилирования, ацетилирования, пегилирования, фосфорилирования, амидирования или дериватизации известными защитными/блокирующими группами. Любые из многочисленных химических модификаций могут быть выполнены посредством известных техник, включая, но не ограничиваясь перечисленными, ацетилирование, формилирование и т.д. Кроме того, указанное производное может содержать одну или большее количество неклассических аминокислот.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации антитело-компонент предложенных в настоящем изобретении композиций сконструировано таким образом, чтобы содержать одну или большее количество свободных аминокислот-цистеинов с реакционноспособными в пределах нужного диапазона тиолами (например, от 0,6 до 1,0), при этом указанное антитело со встроенными цистеинами получают путем процесса, включающего замену одного или большего количества остатков аминокислот исходного антитела на цистеин. Согласно некоторым вариантам реализации один или большее количество свободных остатков аминокислоты цистеина расположены в легкой цепи. Согласно дополнительным вариантам реализации один или большее количество свободных остатков аминокислоты цистеина расположены в тяжелой цепи. Согласно дополнительным вариантам реализации один или большее количество свободных остатков аминокислоты цистеина расположены и в тяжелой, и в легкой цепях. Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело со встроенными цистеинами содержит свободный цистеин с показателем реакционноспособности тиолов в диапазоне от 0,6 до 1,0 и модификацию последовательности легкой цепи или тяжелой цепи, раскрытую в патенте США № 7855275. Согласно другим вариантам реализации антитело со встроенными цистеинами содержит свободный цистеин с показателем реакционноспособности тиолов в диапазоне от 0,6 до 1,0 и модификацию последовательности легкой цепи или тяжелой цепи, не раскрытую в патенте США № 7855275, содержание которого полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело сконструировано так, что оно содержит один или несколько свободных селеноцистеинов или других не встречающихся в природе аминокислот, способных к образованию дисульфидных связей. Содержащие их антитела и способы получения таких антител известны в данной области техники. См., например, источники Hofer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 105(34):12451-12456 (2008); и Hofer et al., Biochem. 48(50): 12047-12057 (2009), каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Согласно некоторым вариантам реализации один или большее количество свободных остатков аминокислоты селеноцистеина расположены в легкой цепи. Согласно дополнительным вариантам реализации один или большее количество свободных остатков аминокислоты селеноцистеина расположены в тяжелой цепи. Согласно дополнительным вариантам реализации один или большее количество свободных остатков аминокислоты селеноцистеина расположены и в тяжелой, и в легкой цепях.

Согласно определенным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) были модифицированы таким образом, что они не вызывают неблагоприятного иммунного ответа у животного, подлежащего лечению, например у человека. Согласно одному варианту реализации указанное антитело модифицировано таким образом, чтобы уменьшить его иммуногенность, с применением известных в данной области техник. Например, антитела-компоненты указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) могут быть гуманизированы, приматизированы, деиммунизированы или химеризованы. Указанные типы антител происходят из не принадлежащего человеку антитела, как правило, антитела мыши или примата, которое сохраняет или, по существу, сохраняет антиген-связывающие свойства исходного антитела, но является менее иммуногенным для человека. Это может достигаться различными способами, включая (а) перенос не принадлежащих человеку полных вариабельных доменов на константные области человека для получения гибридных антител; (b) перенос по меньшей мере части одной или большего количества не принадлежащих человеку определяющих комплементарность областей (областей CDR) в каркасные и константные области человека с сохранением или без сохранения ключевых каркасных остатков; или (с) перенос не принадлежащих человеку полных вариабельных доме-

нов, но с "маскировкой" участками, похожими на принадлежащие человеку участки, путем замены поверхностных остатков. Такие способы раскрыты в источниках Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 81:6851-6855 (1984); Morrison et al., Adv. Immunol. 44:65-92 (1988); Verhoeven et al., Science 239:1534-1536 (1988); Padlan, Molec. Immun. 28:489-498 (1991); Padlan, Molec. Immun. 31:169-217 (1994), и в патентах США №№ 5585089, 5693761, 5693762 и 6190370, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Для снижения иммуногенности MRD-содержащего антитела может также применяться деиммунизация. В настоящем документе термин "деиммунизация" включает изменение MRD-содержащего антитела для модификации Т-клеточных эпитопов (см., например, опубликованные международные патентные заявки WO 9852976 A1 и WO 0034317A2, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки). Например, анализируют последовательности VH и VL исходного антитела и получают "карту" эпитопов Т-клетки человека для каждой V-области, отражающей расположение эпитопов, соответствующих определяющим комплементарность областям (областям CDR) и других ключевых остатков в пределах указанной последовательности. Индивидуальные Т-клеточные эпитопы на карте Т-клеточных эпитопов анализируют для идентификации альтернативных вариантов замен аминокислот с незначительным риском изменения активности полученного антитела. Конструируют набор альтернативных вариантов последовательностей VH и VL, содержащих комбинаций замен аминокислот, и затем указанные последовательности включают в набор антител для применения в раскрытых в настоящем документе способах диагностики и лечения, функционирование которых затем тестируют. Как правило, получают и тестируют от 12 до 24 вариантов антител. Затем полные гены тяжелых и легких цепей, содержащих модифицированные V-области и С-области человека, клонируют в экспрессионные векторы, и полученные плазмиды вводят в клеточные линии для получения полного антитела. Затем указанные антитела сравнивают с применением подходящих биохимических и биологических анализов и идентифицируют оптимальный вариант.

Многие другие антитела-компоненты указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) могут применяться в описанных в настоящем документе способах. Предполагается, что в настоящем изобретении могут применяться каталитические и некаталитические антитела. Например, антитело 38C2 представляет собой антитело-секретирующую гибридому и было ранее описано в опубликованной международной заявке WO 97/21803. 38C2 содержит антитело-комбинирующий сайт, который катализирует реакцию альдольного присоединения между алифатическим донором и альдегидным акцептором. В сингенной модели нейробластомы на мышах системное введение пролекарства этопозида и внутриопухолевое инъецирование антитела 38C2 ингибировали рост опухоли.

Мишень антитела MRD-содержащего антитела (т.е. мишень антигенсвязывающего домена) может представлять собой любую молекулу, с которой желательно взаимодействие гибрида MRD-антитела. Например, мишень антитела может представлять собой растворимый фактор, или мишень антитела может представлять собой трансмембранный белок, такой как рецептор клеточной поверхности. Мишень антитела может также представлять собой внеклеточный компонент или внутриклеточный компонент. Согласно определенным вариантам реализации указанная мишень антитела представляет собой фактор, который регулирует пролиферацию клеток, дифференцировку или выживаемость. Согласно другим вариантам реализации указанная мишень антитела представляет собой цитокин. Согласно другому неисключительному варианту реализации указанная мишень антитела представляет собой фактор, который регулирует ангиогенез. Согласно другому неисключительному варианту реализации указанная мишень антитела представляет собой фактор, который регулирует одну или большее количество иммунных ответов, таких как аутоиммунная реакция, воспаление и иммунный ответ против раковых клеток. Согласно другому неисключительному варианту реализации указанная мишень антитела представляет собой фактор, который регулирует клеточную адгезию и/или межклеточные взаимодействия. Согласно определенным неисключительным вариантам реализации мишень антитела представляет собой молекулу клеточной сигнализации. Способность антитела связываться с мишенью и блокировать, повышать или влиять на биологическую активность мишени антитела может быть определена с применением известных в данной области техники анализов, биологических анализов и/или моделей на животных для оценки такой активности, или путем их рутинной модификации.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой связанный с заболеванием антиген. Указанный антиген может представлять собой антиген, характерный для конкретного ракового заболевания, и/или конкретного типа клеток (например, гиперпролиферативной клетки), и/или конкретного патогена (например, бактериальной клетки (например, возбудителя туберкулеза, оспы, сибирской язвы)), вируса (например, ВИЧ), паразита (например, малярии, лейшманиоза), грибной инфекции, плесневого гриба, микоплазмы, прионного антигена или антигена, связанного с расстройством иммунной системы.

Согласно некоторым вариантам реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой мишень, которая была валидирована в модели на животных или в клинических условиях.

Согласно другим вариантам реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представля-

ет собой раковый антиген.

Согласно одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой: рТцФР-А, рТцФР-В, ТцФР-А, ТцФР-В, ТцФР-СС, ТцФР-С, ТцФР-Д, рФРЭС-1, рецептор ФРЭС-2, рФРЭС-3, ФРЭС-С, ФРЭС-Д, нейропиплин 2 (NRP2), бетацеллюлин, плацентарный фактор роста (ПФР), RET-белок ("rearranged during transfection"), тирозинкиназу с иммуноглобулиноподобным и ЭФР-подобным доменом 1 (TIE1), TIE2 (TEK), углеводный антиген 125 (CA125), CD3, CD4, CD7, CD10, CD13, CD25, CD32, CD32b, CD44, CD49e (интегрин α -5), CD55, CD64, CD90 (THY1), CD133 (проминин 1), CD147, CD166, CD200, альдегиддегидрогеназу 1 (ALDH1), эпителиальный специфический антиген (ESA), белок "Sonic hedgehog" (SHH), белок "Desert hedgehog" (DHH), белок "«Indian hedgehog" (IHH), белок "patched 1" (PTCH1), белок "smoothened" (SMO), WNT1, WNT2B, WNT3A, WNT4, WNT4A, WNT5A, WNT5B, WNT7B, WNT8A, WNT10A, WNT10B, WNT16B, связанный с рецептором липопро-теинов низкой плотности белок 5 (LRP5), связанный с рецептором липопро-теинов низкой плотности белок 6 (LRP6), FZD1, FZD2, FZD4, FZD5, FZD6, FZD7, FZD8, Notch, Notch1, Notch3, Notch4, δ -подобный лиганд 4 (DLL4), Jagged, Jagged1, Jagged2, Jagged3, TNFSF1 (ФНО- β , LTa), TNFRSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFRSF1B (TNFR2), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF6B (DcR3), TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), TNFRSF7 (CD27), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFRSF8 (CD30), TNFSF11 (RANKL), TNFRSF11A (RANK), TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF12 (TWEAKR), TNFSF13 (APRIL), TNFSF13B (BLYS), TNFRSF13B (TACI), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF15 (TL1A), TNFRSF17 (BCMA), TNFRSF19L (RELT), TNFRSF19 (TROY), TNFRSF21 (DR6), TNFRSF25 (DR3), ангиопэтин 1 (ANG1 (ANGPT1)), ANG3 (ANGPTL1), ANG4 (ANGPT4), ИЛ-1- α , ИЛ-1- β , рИЛ-11, рИЛ-12, ИЛ-2, рИЛ-2, ИЛ-5, рИЛ-5, ИЛ-6, рИЛ-6, ИЛ-8, рИЛ-8, ИЛ-10, рИЛ-10, ИЛ-12, рИЛ-12, ИЛ-13, рИЛ-13, ИЛ-15, рИЛ-15, ИЛ-18, рИЛ-18, ИЛ-19, рИЛ-19, рИЛ-21, ИЛ-23, рИЛ-23, фактор ингибирования миграции (MIF), XAG1, XAG3, REGIV, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-3, ФРФ-4, рецептор ФРФ-1 (рФРФ-1), рФРФ-2, рФРФ-3, подобную рецептору активина киназу (ALK), подобную рецептору активина киназу-1 (ALK1), ALK7, молекулу клеточной адгезии активированных лейкоцитов (ALCAM), артемин, Axl, ТФР- β , ТФР- β 2, ТФР- β 3, рТФР- β 1, рИФР-II, BMP2, BMP5, BMP6, BMPRI, GDF3, GDF8, GDF9, N-кадгерин, E-кадгерин, VE-кадгерин, NCAM, L1CAM (CD171), ганглиозид GM2, ганглиозид GD2, кальцитонин, простатический специфический сопряженный с G-белком рецептор (PSGR), DCC, CDCP1, CXCR2, CXCR7, хемокиновый рецептор 3 с CC-мотивом (CCR3), CCR5, CCR7, CCR10, хемокиновый лиганд с CXС-мотивом 1 (CXCL1), CXCL5, CXCL6, CXCL8, CXCL12, хемокиновый лиганд с CC-мотивом 3 (CCL3), CCL4, CCL5, CCL11, клаудин 1, клаудин 2, клаудин 3, клаудин 4, трансмембранный белок с EGF-подобным и двумя фоллистатин-подобными доменами (TMEFF2), нейрегулин, макрофагальный колониестимулирующий фактор (МКСФ), колониестимулирующий фактор (КСФ), рецептор колониестимулирующего фактора (CSFR, fins), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (ГКСФ), рецептор гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (рГКСФ), молекулы адгезии базальных клеток (BCAM), HPV, hCG, SRIF, ПСА, FOLR2 (рецептор фолиевой кислоты β), BRCA1, BRCA2, HLA-DR, ABCC3, ABCB5, HM1.24, LFA1, LYNX, S100A8, S100A9, фактор стволовых клеток (SCF), фактор фон Виллебранда, рецептор Lewis Y6, Lewis Y, CA G250 (CA9), интегрин avb3 (CNTO95), интегрин avb5, активин B1- α , рецептор лейкотриена B4 (LTB4R), нейротензиновый NT-рецептор (NTR), онкофетальный антиген 5T4, танасцин С, матриксную металлопротеиназу (MMP), MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, MMP14, MMP26, катепсин G, катепсин H, катепсин L, сульфатазу 1 (SULF1), сульфатазу 2 (SULF2), MET, UPA, MHC1, MN (CA9), TAG-72, TM4SF1, гепараназу (FIPSE), синдекан (SDC1), эфрин B2, эфрин B4 или релаксин 2. Согласно еще одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой CD137, CD137L, CD152, CD160, CD272, CD273, CD274, CD275 (лиганд индуцируемого костимулятора Т-клеток (ICOSL)), CD276, рецептор CD276, CD278 (индуцируемый костимулятор Т-клеток (ICOS)), CD279, B7-H4, рецептор B7H4, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CCL17, CCL21, CCL22, ИЛ-35, TNFRSF10b (DR5) или гуанилатциклазу 2C (GUC2c, MECIL). MRD, который связывается с одной из перечисленных выше мишеней, охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Предполагается, что указанные выше и описанные в других местах в настоящем документе мишени антител и MRD являются иллюстративными и неограничивающими.

Согласно еще одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой CD19, CD22, CD30, CD33, CD38, CD44v6, TNFSF5 (лиганд CD40), TNFRSF5 (CD40), CD52, CD54 (молекулу межклеточной адгезии (ICAM)), CD74, CD80, CD200 EPCAM (EGP2), нейропиплин 1 (NRP1), TEM1, мезотелин, ТРФ- β 1, рецептор II трансформирующего фактора роста β (рТФР- β , рТФР- β -II), фосфатидилсерин, рецептор фолиевой кислоты альфа (FOLR1), TNFRSF10A (TRAIL R1 DR4), TNFRSF10B (TRAIL R2 DR5), CXCR4, CCR4, CCL2, ФРГ, CRYPTO, VLA5, TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF9 (41BB), связанный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA4), HLA-DR, ИЛ-6, рецептор 4 суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей (TNFSF4, лиганд OX40),

TNFRSF 4 (OX40), MUC1, MUC18, муцин CanAg, ганглиозид GD3, содержащий ЭФР-подобный домен белок 7 (EGFL7), рецептор ТцФР- α , ИЛ-21, ИФР-1, ИФР-2, CD117 (cKit), простатический специфический мембранный антиген (ПСМА), SLAMF7, раково-эмбриональный антиген (РЭА), белок активации фибробластов (FAP), интегрин avb3 или интегрин $\alpha 5 \beta 3$. Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой CD70, LAG3 или KIR. MRD, которые связываются с одной из перечисленных выше мишеней, охвачены настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно конкретным вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание мишени с антителом, выбранным из: сиплизумаба к CD2 (например, MEDI-507, MedImmune), блинатумаба к CD19 CD3 (например, MT103, Micromet/MedImmune); XMAB®5574 к CD19 (Xencor), SGN-19A к CD19 (Seattle Genetics), ASG-5ME (Agenesys и Seattle Genetics), MEDI-551 к CD19 (MedImmune), эпратузамаба к CD22 (например, hLL2, Immunomedics/UCB), инотузамаба озогамидина к CD22 (Pfizer), иратумаба к CD30 (например, SGN-30 (Seattle Genetics) и MDX-060 (Medarex)), XMAB®2513 к CD30 (Xencor), брентуксимаба ведотина к CD30 (например, SGN-35, Seattle Genetics), гемтузамаба озогамидина к CD33 (например, MYLOTARG®, Pfizer), линтузамаба к CD33 (например, антитела Seattle Genetics), MOR202, CD38 (MorphoSys), даратумаба к CD38 (например, антитело Genmab), CP870893 к CD40 (Pfizer), дацетузамаба к CD40 (например, SGN40, Seattle Genetics), ANTOVA® к CD40 (Biogen Idec), лукатумаба к CD40 (например, HCD122, Novartis) XMAB®5485 к CD40 (Xencor), тенеликсимаба, руплизумаба к CD40L (например, ANTOVA®), биватузамаба мертанзина к CD44v6, алемтузамаба к CD52 (например, CAMPATH®/MABCAMPATH®, Genzyme/Bayer), BI505 к молекуле межклеточной адгезии ICAM1 (Bioinvent), милатузамаба к CD74 (например, антитело от Immunomedics), галиксимаба к CD80 (Biogen Idec), BMS663513 к 4-1BB (Bristol-Myers Squibb), антитело Alexion к CD200 (Alexion), едреколомаб к EPCAM (например, MAb7-1A, PANOREX® (GlaxoSmithKline), AT003 к EPCAM (Affitech)), адекватумаба к EPCAM (например, MT201, Micromet), опортумаба молатокса к EPCAM, антитела против NRP1 Genentech, MORAB004 к TEM1 (Morphotek), MORAB009 против мезотелина (Morphotek), лерделиумаба к ТФР- β 1 (например, CAT-152, Cambridge Antibody Technology), метелиумаба к ТФР- β 1 (например, CAT-192, Cambridge Antibody Technology), антитела против рТФР- β ImClone, бавитуксимаба к фосфатидилсерину (например, антитела Peregrine (Peregrine Pharmaceuticals)), AT004 к фосфатидилсерину (Affitech), AT005 к фосфатидилсерину (Affitech), MORAB03 к рецептору фолиевой кислоты альфа (Morphotek), фарлетузамаба к раковому рецептору фолиевой кислоты альфа (например, MORAB003, Morphotek), CS1008 к DR4 (Sankyo), мапатумаба к DR4 (например, HGS-ETR1, Human Genome Sciences), LBY135 к DR5 (Novartis), AMG66 к DR5 (Amgen), апомаба (Aromab) к DR5 (Genentech), PRO95780 (Genentech), лексатумаба к DR5 (например, HGS-ETR2, Human Genome Sciences), конатумаба к DR5 (например, AMG655, Amgen), тигатузамаба к DR5 (например, CS-1008), AT009 к CXCR4 (Affitech), AT008 к CCR4 (Affitech), CNTO-888 к CCL2 (Centocor), AMG102 к ФРГ (Amgen), антитела к CRYPTO (Biogen Idec), антитела M200 к VLA5 (Biogen Idec), ипилиумаба к CTLA4 (например, MDX-010, Bristol-Myers Squibb/Medarex), белатасепта к CTLA4 ECD (например, CP-675206, Pfizer), IMMUI14 HLA-DR (Immunomedics), аполизумаба к HLA-DR, тоцилизумаба к рИЛ-6 (например, АСТЕМР®/ROACTREMRA®, Hoffman-La Roche), OX86 к OX40, пемтумаба к PEM/MUC1 (Theragyn), ABX-MA1 к MUC-18 (Abgenix), кливатузамаба к MUC-18 (например, hPAM4, Immunomedics), кантузамаба мертанзина к муцину CanAg, экромексимаба (Ludwig Institute), антитела против EGFL7 от Genentech, AMG820 к CSFR (Amgen), оларатумаба к рецептору ТцФР- α (например, антитела Imclone (Imclone)), антитела к ИЛ-21 Zymogenetics (Zymogenetics), MEDI-573 к ИФР-1/ИФР-2 (MedImmune), AMG191 к cKit (Amgen), этарацизумаба (например, MEDI-522, MedImmune) и MLN591 к ПСМА (Millennium Pharmaceuticals), элотузамаба к SLAMF7 (например, HuLuc63, BMS), лабетузамаба к РЭА (CEA-CIDE®, Immunomedics), сибротузамаба к FAP, CNTO95 к интегрину avb3 (Centocor), VITAXIN® к интегрину avb3 (MedImmune) и волоксимаба к $\alpha 5 \beta 1$ (мишени антитела выделены курсивом). MRD, которые конкурируют за связывание мишени с одним из указанных выше антител, охвачены настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание мишени с антителом, выбранным из: MDX-1342 к CD19 (BMS), SGN-CD19A к CD19 (Seattle Genetics), антитела против CD20, описанного в патенте США № 5500362, офатумаба к CD20 (например, ARZERRA®, GENMAB), велтузамаба к CD20 (hA20, Takeda и Nycomed), PRO70769 к CD20 (Genentech; см. например, международную заявку № PCT/US 2003/040426), AMG780 к Tie2/Ang1 (Amgen), REGN910 к ANG2 (Regeneron) и антитело против CD22, описанное в патенте США № 5789554 (Immunomedics), лумиликсимаба к CD23 (например, IDEC152, Biogen), IDEC-152 к CD23 (Biogen), MDX-1401 к CD30 (BMS), HeFi-1 к CD30 (NCI), дарату-

муаба к CD38, антитела против CD-40, описанное в опубликованной международной заявке № WO 2007124299 (Novartis), IDEC-131 к CD40L (Biogen), MDX-1411 к CD70 (BMS), ADC SGN-75 к CD70 (Seattle Genetics), ADC HuMax-CD74™ к CD74 (Genmab), IDEC-114 к CD80 (Biogen), TRC105 к CD105/эндоглину (Tacon), ABX-CBL к CD147 (Amgen), RG1HuMax-TF™ к тканевому фактору (TF) (Genmab), HuMax-Her2™ к ErbB2 (Genmab), трастузумаба-DM1 к ErbB2-DM1 (Genentech), AMG888 к HER3 (Amgen и Daiichi Sankyo), HuMV833 к ФРЭС (Tsukuba Research Lab, см., например, опубликованную международную заявку № WO 2000/034337), IMC-18F1 к рФРЭС-1 (Imclone), IMC-1C11 к рФРЭС-1 (Imclone), DC101 к рецептору ФРЭС-2 (Imclone), KSB-102 к рЭФР (KS Biomedix), mAb-806 к рЭФР (Институт Людвига по исследованию рака, "Ludwig Institute for Cancer Research"), MR1-1 к токсину рЭФР-вариант III (IVAX, National Cancer Institute), HuMax-рЭФР к рЭФР (Genmab, см., например, заявку на патент США № 10/172317), IMC-11F8 к рЭФР (Imclone), CDX-110 к рЭФР-вариант III (AVANT Immunotherapeutics), залумумаба к рЭФР (Genmab), 425, EMD55900 и EMD62000 к рЭФР (Merck KGaA, см., например, патент США № 5558864), ICR62 к рЭФР (Institute of Cancer Research, см., например, опубликованную международную заявку № WO 95/20045), SC100 к рЭФР (Scancell и ISU Chemical), MOR201 к рФРФ-3 (Morphosys), ARGX-111 к c-Met (arGEN-X), HuMax-cMet™ к cMet (Genmab), GC-1008 к ТФР-β1 (Genzyme), MDX-070 к PCMA (BMS), huJ591 к PCMA (Cornell Research Foundation), muJ591 к PCMA (Cornell Research Foundation), GC1008 к ТФР-β (Genzyme), NG-1 к Ep-CAM (Xoma), MOR101 к ICAM-1 (CD54) (Morphosys), MOR102 к ICAM-1 (CD54) (Morphosys), ABX-MA1 к MUC18 (Abgenix), HumaLYM (Intracel), HumaRAD-HN (Intracel), HumaRAD-OV (Intracel), ARGX-110 и ARGX-111 (arGEN-X), HuMax для лечения лимфомы (Genmab и Amgen), милатузумаба к CD74 (например, IMMU-115, IMMU-110; Immunomedics), HuMax для лечения рака к гепараназе I (Genmab), Hu3S193 к Lewis (y) (Wyeth, Ludwig Institute of Cancer Research), RAV12 к N-связанному углеводному эпитопу (Raven), нимотузумаба (TheraCIM, hR3; YM Biosciences, см., например, патенты США №№ 5891996 и 6506883), BEC2 к GD3 (Imclone), ⁹⁰Y такатузумаба тетракетана к α-фетопротейну (например, FP-CIDE®, Immunomedics), KRN330 (Kirin), huA33 к A33 (Институт Людвига по исследованию рака), mAb 216 к гликозилированному эпитопу В-клеток (NCI), REGN421 к DLL4 (Regeneron), ADC ASG-5ME к SLC44A4 (AGS-5), ADC ASG-22ME к нектину-4, CDX-1307 (MDX-1307), hCGb (Celldex), белка, ассоциированного с паратиреоидным гормоном (PTH-rP)(UCB), MT293 к расщепленному коллагену (TRC093/D93, Tacon), KW-2871 к GD3 (Kyowa), KIR (1-7F9) к KIR (Novo), A27.15 к рецептору трансферрина (Salk Institute, см., например, опубликованную международную заявку № WO 2005/111082) и E2.3 к рецептору трансферрина (Salk Institute). MRD, которые конкурируют за связывание мишени с одним из указанных выше антител, охвачены настоящим изобретением.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительным вариантам реализации одно из описанных выше антител представляет собой антитело MRD-содержащего антитела.

Согласно конкретным вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела представляет собой антитело, выбранное из: сиплизумаба к CD2 (например, MEDI-507, MedImmune), блинатумаба к CD19 CD3 (например, MT103, Micromet/MedImmune); XMAB®5574 к CD19 (Xencor), SGN-19A к CD19 (Seattle Genetics), ASG-5ME (Agenesys и Seattle Genetics), MEDI-551 к CD19 (MedImmune), эпратузумаба к CD22 (например, hLL2, Immunomedics/UCB), инотузумаба озогамидина к CD22, иратузумаба к CD30 (например, SGN-30 (Seattle Genetics) и MDX-060 (Medarex)), XMAB®2513 к CD30 (Xencor), брентуксимаба ведотина к CD30 (например, SGN-35, Seattle Genetics), гемтузумаба озогамидина к CD33 (например, MYLOTARG®, Pfizer), линтузумаба к CD33 (например, антитело от Seattle Genetics), MOR202 к CD38 (MorphoSys), даратумаба к CD38 (например, антитело Genmab), CP870893 к CD40 (Pfizer), дацетузумаба к CD40 (например, SGN40, Seattle Genetics), ANTOVA® к CD40 (Biogen Idec), лукатумаба к CD40 (например, HCD122, Novartis) XMAB®5485 к CD40 (Xencor), тенеликсимаба, руплизумаба к CD40L (например, ANTOVA®), биватузумаба мертанзина CD44v6, алемтузумаба к CD52 (например, CAMPATH®/MABCAMPATH®, Genzyme/Bayer), BI505 к ICAM1 (Bioinvent), милатузумаба к CD74 (например, антитело от Immunomedics), галиксимаба к CD80 (Biogen Idec), BMS663513 к 4-1BB (Bristol-Myers Squibb), антитела Alexion к CD200 (Alexion), едреколомаба к EPCAM (например, MAb7-1A, PANOREX® (GlaxoSmithKline), AT003 к EPCAM (Affitech)), адекватумаба к EPCAM (например, MT201, Micromet), опортузумаба монатокса к EPCAM, антитела против NRP1 от Genentech, MORAB004 к TEM1 (Morphotek), MORAB009 к мезотелину (Morphotek), лерделиумаба к ТФР-β1 (например, CAT-152, Cambridge Antibody Technology), метелиумаба к ТФР-β1 (например, CAT-192, Cambridge Antibody Technology), антитела против рТФР-β от ImClone, бавитуксимаба к фосфатидилсерину (например, антитела Peregrine (Peregrine Pharmaceuticals)), AT004 к фосфатидилсерину (Affitech), AT005 к фосфатидилсерину (Affitech), MORAB03 к рецептору фолиевой кислоты альфа (Morphotek), фарлетузумаба к раковому рецептору фолиевой кислоты альфа (например, MORAB003, Morphotek), CS1008 к DR4 (Sankyo), мапатумаба к DR4 (например, HGS-ETR1, Human Genome Sciences), LBY135 и DR5 (Novartis), AMG66

и DR5 (Amgen), апомаба и DR5 (Genentech), PRO95780 (Genentech), лексатумумаба к DR5 (например, HGS-ETR2, Human Genome Sciences), конатумумаба к DR5 (например, AMG655, Amgen), тигатузумаба (например, CS-1008), AT009 к CXCR4 (Affitech), AT008 к CCR4 (Affitech), CNTO-888 к CCL2 (Centocor), AMG102 к ФПГ (Amgen), антитела к CRYPTO (Biogen Idec), антитело M200 к VLA5 (Biogen Idec), ипилимумаба к CTLA4 (например, MDX-010, Bristol-Myers Squibb/Medarex), белатасепта к CTLA4 ECD (например, CP-675,206, Pfizer), IMMU114 к HLA-DR (Immunomedics), аполизумаба к HLA-DR, тоцилизумаба к pИЛ-6 (например, АСТЕМР®А/РОАСТРЕМРА®, Hoffman-La Roche), OX86 к OX40, пемтумумаба к РЕМ/MUC1 (Theragyn), ABX-MA1 к MUC-18 (Abgenix), кантузумаба мертансина к муцину CanAg, экромексимаба (Ludwig Institute), антитела Genentech против EGFL7, AMG820 к CSFR (Amgen), оларатумаба к рецептору ТцФР-α (например, антитело от Imclone (Imclone)), антитела Zymogenetics к ИЛ-21 (Zymogenetics), MEDI-573 к ИФР-1/ИФР-2 (MedImmune), AMG191 к cKit (Amgen), этарацизумаба (например, MEDI-522, MedImmune), MLN591 к ПСМА (Millennium Pharmaceuticals), элотузумаба к SLAMF7 (например, HuLuc63, PDL), лабетузумаба к РЭА (CEA-CIDE®, Immunomedics), сибротузумаба к FAP, CNTO95 к интегрину avb3 (Centocor), VITAXIN® к интегрину avb3 (MedImmune) и волоксимаба к α5β1 (например, M200, PDL и Biogen Idec).

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой ALK1. Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой PF-3446962 (Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PF-3446962. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PF-3446962 с ALK1. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание ALK1 с PF-3446962, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой CD22. Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой инотузумаб (например, инотузумаб озогамидина CMC-544, PF-5208773; Pfizer). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и инотузумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание инотузумаба с CD22. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание CD22 с инотузумабом также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой CRYPTO. Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело к CRYPTO от Biogen, доведенное до I фазы клинических испытаний (Biogen Idec). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело к CRYPTO от Biogen. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание антитела к CRYPTO от Biogen с CRYPTO. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание CRYPTO с антителом к CRYPTO от Biogen, также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой TNFSF5 (лиганд CD40). Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело к CD40L от Biogen, доведенное до I фазы клинических испытаний (Biogen Idec). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело к CD40L от Biogen. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание антитела к CD40L от Biogen с CD40L. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание CD40L с антителом к CD40L от Biogen, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой CD80. Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой галиксимаб (Biogen Idec). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и галиксимаб. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание галиксимаба с CD80. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание CD80 с галиксимабом, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD80 и мишень, выбранную из CD2, CD3, CD4, CD19, CD20, CD22, CD23, CD30, CD33, TNFRSF5 (CD40), CD52, CD74, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), рФРЭС-1, рФРЭС-2 и ФРЭС. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD80 и мишень, выбранную из CD3, CD4 и NKG2D. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CD80 и также по меньшей мере связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество ука-

занных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD80. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой галиксимаб. Согласно дополнительному варианту реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывает молекулу на поверхности клетки, а домены MRD MRD-содержащего антитела связывает TNFRSF10B (DR5) через один или большее количество эпитопов с валентностью, составляющей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более.

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой МКCF. Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой PD-360324 (Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PD-360324. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PD-360324 с МКCF. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание МКCF с PD-360324, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой CD44. Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой PF-3475952 (Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PF-3475952. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PF-3475952 с CD44. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за CD44 связывание с PF-3475952, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой р-кадгерин (CDH3). Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой PF-3 732 010 (Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PF-3 732 010. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PF-3 732 010 с р-кадгерином. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание р-кадгерина с PF-3 732 010, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно еще одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой ANG2 (ANGPT2). Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой MEDI3617 (MedImmune). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и MEDI3617. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание MEDI3617 с ANG2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание ANG2 с MEDI3617, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой ANG-2-связывающее антитело, раскрытое в патентах США №№ 7063965, 7063840, 6645484, 6627415, 6455035, 6433143, 6376653, 6166185, 5879672, 5814464, 5650490, 5643755, 5521073; опубликованных заявках на патент США №№ 2011/0158978 (например, H4L4), 2006/0246071, 2006/0057138, 2006/0024297, 2006/0018909, 2005/0100906, 2003/0166858, 2003/0166857, 2003/0124129, 2003/0109677, 2003/0040463 и 2002/0173627 или опубликованных международных заявках №№ WO 2006/020706, WO 2006/045049, WO 2006/068953 или WO 2003/030833 (содержание каждой из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки). Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание ANG2 с указанными антителами, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ANG2 и дополнительно связывает мишень, выбранную из: ФРЭС (т.е. ФРЭС-А), ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIС), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, ФНО, рФРФ-3, эфрина А-1 (EFNa1), эфрина А-2 (EFNa2), ANG1, ANG2, ИЛ-1, ИЛ-β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ФРГ, тромбоцитарного фактора роста альфа (ТрФР-А), ПФР, ТрФР-В, CXCL12, KIT, ГКCF, CXCR4, тирозиновой протеинфосфатазы С рецепторного типа (PTPRC), TIE2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, Notch1, DLL4, EGFL7, интегрин α2β1, интегрин α4β1, интегрин α5β1, интегрин αvβ3, ТФР-β, матричной металлопротеиназы 2 (MMP2), MMP7, MMP9, MMP12, урокиназного активатора плазминогена (PLAU), молекулы адгезии сосудистого эндотелия 1 (VCAM1), рТцФР-А и рТцФР-В. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ANG2 и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой MEDI3617, AMG780 или REGN910. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-

содержащего антитела представляет собой H4L4.

Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ANG2 и ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ANG2 и ИЛ-6. Согласно другим вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ANG2 и ИЛ-1. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает ANG2, ИЛ-6 и ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает ANG2, ИЛ-1 и ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ANG2, ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО.

Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ANG2 и ФНО, и антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой адалимумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело конкурирует с адалимумабом за связывание с ФНО.

Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ANG2. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой связывающее ANG2 антитело, выбранное из SAITAng-2-1, SAITAng-2-2, SAITAng-2-3, SAITAng-2-4 или другого антитела, раскрытого в опубликованной международной заявке WO 2009/142460. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие антитело и/или 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание ANG2 с одним или большим количеством указанных антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает TIE2. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой связывающее TIE2 антитело, раскрытое в патентах США №№ 6365154 и 6376653; опубликованных заявках на патент США №№ 2007/0025993, 2006/0057138 и 2006/0024297; или опубликованные международные заявки №№ WO 2006/020706, WO 2000/018437 и WO 2000/018804 (содержание каждой из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки). Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие антитело и/или 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание TIE с одним или большим количеством указанных антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно определенным вариантам реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой рЭФР (ErbB1), ErbB2, ErbB3, ErbB4, CD20, рецептор инсулиноподобного фактора роста-1, простатический специфический мембранный антиген, интегрин или cMet.

Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает рЭФР (ErbB1). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой ERBITUX® (IMC-C225). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и ERBITUX®. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание ERBITUX® с рЭФР. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе ингибирует димеризацию рЭФР. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой матузумаб (например, EMD 72000, Merck Serono) или панитумумаб (например, VECTIBIX®, Amgen). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и матузумаб или панитумумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание матузумаба или панитумумаба с рЭФР. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело представляет собой ABX-EGF (Immunex) или MEDX-214 (Medarex). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и ABX-EGF или MEDX-214. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание ABX-EGF или MEDX-214 с рЭФР. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой залутумумаб (Genmab) или нимотузумаб (Bioscon). Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и залутумумаб (Genmab) или нимотузумаб (Bioscon). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание залутумумаба (Genmab) или нимотузумаба (Bioscon) с рЭФР. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рЭФР (ErbB1) и мишень, выбранную из: ФРГ, CD64, CDCP1, RON, cMET, ErbB2, ErbB3, рИФР-1, плацентарного фактора роста (ПФР), молекулы RGMa, рецептора ТцФР-α, (рТцФР-β), рецептора ФРЭС-1, рецептора ФРЭС-2, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), ИФР-1,2, ИФР-2, CD3, CD4, NKG2D и столбнячного анатоксина. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащие антитела) связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рЭФР. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой матузумаб, панитумумаб, MEDX-214 или ABX-EGF. Согласно дополни-

тельным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой нимотузумаб (Bioscon) или залутумумаб. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой эрбитукс (Erbibitux®).

Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ErbB1 и дополнительно связывает ErbB3. Согласно некоторым вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB1 и MRD MRD-содержащего антитела связывает ErbB3. Согласно конкретному варианту реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой цетуксимаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за ErbB1-связывающих с цетуксимабом. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой ErbB1-связывающее антитело, выбранное из: нимотузумаба (Bioscon), матузумаба (Merck KGaA), панитумумаба (Amgen), залутумумаба (Genmab), MEDX-214 и ABX-EGF. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB1 с антителом, выбранным из: нимотузумаба, матузумаба, панитумумаба и залутумумаба. Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB3 и MRD MRD-содержащего антитела связывает ErbB1. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой связывающее ErbB3 антитело, выбранное из MM121 (Merrimack), 8B8 (Genentech), AV203 (Aveo) и AMG888 (Amgen). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB3 с антителом, выбранным из MM121, 8B8, AV203 и AMG888.

Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело специфически связывает ErbB2 (Her2). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой трастузумаб (например, Герцептин®, Genentech/Roche). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и трастузумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание трастузумаба с ErbB2. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени по меньшей мере с 1, 2, 3, 4, 5, 6 из перечисленных выше антител. Согласно другим вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывается с ErbB2. Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое специфически связывается с тем же эпитопом, что и антитело против ErbB2 трастузумаб (например, Герцептин®, Genentech). Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание ErbB2 антителом против ErbB2 трастузумабом. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело трастузумаб против ErbB2. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе ингибирует димеризацию HER2. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе ингибирует гетеродимеризацию HER2 с HER3 (ErbB3). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой пертузумаб (например, OMNITARG® и phrMab2C4, Genentech). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и пертузумаб. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание ErbB2 пертузумабом. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой трастузумаб и 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD в MRD-содержащем антителе конкурентно ингибируют связывание ErbB2 пертузумабом.

Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой связывающее ErbB2 антитело, выбранное из группы MDX-210 (Medarex), tgDCC-E1A (Targeted Genetics), MGAH22 (MacroGenics) и пертузумаб (OMNITARG™, 2C4; Genentech). MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, или 4 из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5,

6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени по меньшей мере с 1, 2, 3 или 4 из указанных выше антител. Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и дополнительно связывает ErbB3. Согласно некоторым вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB2 и MRD MRD-содержащего антитела связывает ErbB3. Согласно конкретному варианту реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой трастузумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB2 с трастузумабом. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой связывающее ErbB2 антитело, выбранное из MDX-210 (Medarex), tgDCC-E1A (Targeted Genetics), MGAH22 (MacroGenics) и пертузумаба (OMNITARG™). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB2 с антителом, выбранным из: MDX-210, tgDCC-E1A, MGAH22 и пертузумаба. Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB3 и MRD MRD-содержащего антитела связывает ErbB2.

Согласно некоторым вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе содержит области CDR антитела трастузумаб против ErbB2. Последовательности CDR, VH и VL трастузумаба приведены в табл. 1.

Таблица 1

CDR	Последовательность
VL-CDR1	RASQDVNTAVAW (SEQ ID NO:59)
VL-CDR2	SASFLYS (SEQ ID NO:60)
VL-CDR3	QQHYTTPPT (SEQ ID NO:61)
VH-CDR1	GRNIKDTYIH(SEQ ID NO:62)
VH-CDR2	RIYPTNGYTRYADSVKG(SEQ ID NO:63)
VH-CDR3	WGGDGFYAMDY(SEQ ID NO:64)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK LLIYSASFSLYSGVPSRFSGRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQHYT TPPTFGQGQTKVEIKRT (SEQ ID NO:65)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:66)

Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело специфически связывает ErbB3 (Her3). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой MM121 (Merrimack Pharmaceuticals) или AMG888 (Amgen). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и MM121 или AMG888. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание MM121 или AMG888 с ErbB3. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой AV-203 (AVEO). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и AV-203. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание AV-203. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1 или обоими указанными выше антителами, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело специфически связывает ФРЭС (ФРЭС-А). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой бевацизумаб (например, Авастин®, Genentech/Roche). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и бевацизумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание бевацизумаба с ФРЭС-А. Согласно другому варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело представляет собой AT001 (Affitech). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и AT001. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание AT001 с ФРЭС-А. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с одним или обоими указанными выше антителами, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно некоторым вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе содержит области CDR антитела бевацизумаб против ФРЭС. Последовательности CDR, VH и VL бевацизумаба при-

ведены в табл. 2.

Таблица 2

CDR	Последовательность
VL-CDR1	SASQDISNYLN (SEQ ID NO:72)
CDR	Последовательность
VL-CDR2	FTSSLHS (SEQ ID NO:73)
VL-CDR3	QQYSTVPWT (SEQ ID NO:74)
VH-CDR1	GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:75)
VH-CDR2	WINTYTGEPTYAADFKR (SEQ ID NO:76)
VH-CDR3	YPHYYGSSHWFYFDV (SEQ ID NO:77)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKV LIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYSTV PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:78)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKG LEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAE DTAVYYCAKYPHYYGSSHWFYFDVWQGQGLVTVSS (SEQ ID NO:79)

Согласно другим конкретным вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает ФРЭС. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой бевацизумаб (например, Авастин®, Genentech). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и бевацизумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание бевацизумаба с ФРЭС. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой r84 (Peregrine) или 2C3 (Peregrine). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и r84 или 2C3. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание ФРЭС антителом r84 или 2C3. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или 3 из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФРЭС и дополнительно связывает ангиогенную мишень, выбранную из ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TNFSF2 (ФНО-α), рФРФ-3, EFNa1, EFNa2, ANG1, ANG2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ФРГ, TIE2, ТрФР-А, ПФР, ТрФР-В, CXCL12, KIT, ГКСФ, CXCR4, PTPRC, TIE2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, Notch1, DLL4, EGFL7, интегрин α2β1, интегрин α4β1, интегрин α5β1, интегрин αvβ3, ТФР-β, MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAU, VCAM1, рТцФР-А и рТцФР-В. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФРЭС и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФРЭС. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой r85, 2C3 или AT001. Согласно конкретному варианту реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой бевацизумаб.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФРЭС и дополнительно связывает мишень, выбранную из ИЛ-1-β, фосфатидилсерина, TNFSF11 (RANKL), TNFSF12 (TWEAK), ИФР-1,2, ИФР-2, ИФР-1, DKK1, SDF2, CXCL1 (фракталкина), склеростина и столбнячного анатоксина, и ФРГ. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФРЭС и дополнительно связывает мишень, выбранную из: ErbB3, рЭФР, сMet, ФРЭС, RON (MST1R), DLL4, CDCP1 CD318), NRP1, ROBO4, CD13, CTLA4 (CD152), ICOS (CD278), CD20, CD22, CD30, CD33, CD80 и pИЛ-6. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФРЭС и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФРЭС. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой r85, 2C3 или AT001. Согласно конкретному варианту реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой бевацизумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело специфически связывает рФРЭС-1. Согласно одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание афлиберцепта (Regeneron) с рФРЭС-1. Согласно еще одному варианту

реализации антитело в MRD-содержащем антителе ингибирует димеризацию рФРЭС-1. MRD, конкурирующий за связывание мишени с афлиберцептом, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с афлиберцептом, также охвачены настоящим изобретением. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело специфически связывает рецептор ФРЭС-2. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой рамуцирумаб (например, IMC1121B и IMC1C11, ImClone). Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе ингибирует димеризацию рецептора ФРЭС-2. Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и рамуцирумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание рамуцирумаба с рецептором ФРЭС-2. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание афлиберцепта с рецептором ФРЭС-2. MRD, конкурирующий за связывание мишени с рамуцирумабом, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с рамуцирумабом или афлиберцептом, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно другим вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывается с рецептором ФРФ (например, рецептором ФРФ-1 (рФРФ-1), рФРФ-2, рФРФ-3 или рФРФ-4). Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое специфически связывается с рецептором ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIС). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой IMC-A1 (Imclone). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и IMC-A1. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание IMC-A1 с рецептором ФРФ-1 (рФРФ-1). Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание FP-1039 (Five Prime) с лигандом ФРФ рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1). Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое специфически связывается с рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIВ и рФРФ-2-IIIС). Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое специфически связывается с рФРФ-3. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой IMC-A1 (Imclone). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PRO-001 (ProChon Biotech), R3Mab (Genentech) или 1A6 (Genentech). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PRO-001 (ProChon Biotech), R3Mab (Genentech) или 1A6 (Genentech). MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител или ловушек для лигандов, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1 или большим количеством указанных выше антител или ловушек для лигандов, также охвачены настоящим изобретением. Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает CD20. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой ритуксимаб (например, RITUXAN®/MABTHERA®, Genentech/Roche/Biogen Idec). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и ритуксимаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание ритуксимаба с CD20. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело представляет собой GA101 (Biogen Idec/Roche/Glycart). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и GA101. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание GA101 с CD20. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело представляет собой PF-5230895 (SBI-087; Pfizer). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PF-5230895. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PF-5230895 с CD20. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой окрелизумаб (например, 2H7; Genentech/Roche/Biogen Idec). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и окрелизумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание окрелизумаба с CD20. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело выбрано из обинутузумаба (например, GA101; Biogen Idec/Roche/Glycart), офатумумаба (например, ARZERRA® и HuMax-CD20 от Genmab), велтузумаба (например, IMMU-160, Immunomedics), AME-133 (Applied Molecular Evolution), SGN35 (Millennium), TG-20 (GTC Biotherapeutics), афутузумаба (Hoffman-La Roche) и PRO131921 (Genentech). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, выбранное из обинутузумаба, офатумумаба, велтузумаба, AME-133, SGN35, TG-20 и PRO131921. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание CD20 антителом, выбранным из обинутузумаба, офатуму-

маба, велтузумаба, AME-133, SGN35, TG-20, афутузумаба и PRO131921. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени по меньшей мере с 1, 2, 3, 4, 5, 6 из указанных выше антител.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD20 и мишень, выбранную из CD19, CD22, CD30, TNFRSF5 (CD40), CD52, CD74, CD80, CD138, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рЭФР, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), ФНО, фактора роста нервов (НРФ), ФРЭС, ИФР-1,2, ИФР-2, ИФР-1 и RANKL. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD20 и мишень, выбранную из CD3, CD4 и NKG2D. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CD20 и также связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD20. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой антитело, выбранное из ритуксимаба, GA101, PF-5230895, окрелизумаба, обинутузумаба, офатумумаба, велтузумаба, AME-133, SGN35, TG-20, афутузумаба и PRO131921.

Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело специфически связывает рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело выбрано из циксутумумаба (например, IMC-A12, Imclone), фигитумумаба (например, CP-751,871, Pfizer), AMG479 (ганитумаб, Amgen/Millennium), ВІІВ022 (Biogen Idec), SCH 717454 (Schering-Plough) и R1507 (Hoffman La-Roche). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, выбранное из циксутумумаба, фигитумумаба, AMG479, ВІІВ022, SCH 717454 и R1507. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание рИФР-1 антителом, выбранным из циксутумумаба, фигитумумаба, AMG479, ВІІВ022, SCH 717454 и R1507. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой фигитумумаб. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и фигитумумаб. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание рИФР-1 фигитумумабом. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой ВІІВ022. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и ВІІВ022. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание рИФР-1 ВІІВ022. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе ингибирует димеризацию рИФР-1. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание рИФР-1 с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание рИФР-1 по меньшей мере с 1, 2, 3, 4, 5, 6 из указанных выше антител.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) и мишень, выбранную из рЭФР, ErbB2, ErbB3, рецептора ТцФР- α , β -рецептор тромбоцитарного фактора роста (рТцФР-В), сMet, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), CD20, NKG2D, ФРЭС, простагландина E2 (PGE2), ИФР-1, ИФР-2 и ИФР-1,2. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) и мишень, выбранную из CD3, CD4 и NKG2D. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) и связывают 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела выбран из циксутумумаба, фигитумумаба, AMG479, ВІІВ022, SCH 717454 и R1507.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает мишень (например, лиганд, рецептор или вспомогательный белок), связанную с опосредованной эндогенным рецептором гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) транспортной системой (например, опосредованными рецептором инсулина, рецептором трансферрина, рецептором лептина, рецептором липопротеинов и рецептором ИФР транспортными системами) и способную проникать на мозговую сторону ГЭБ. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая компо-

зия (например, MRD-содержащее антитело) содержит 2, 3, 4, 5 или большее количество сайтов связывания (т.е. способна к мультивалентному связыванию) целевого антигена (например, лиганда, рецептора или вспомогательного белка), связанного с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой (например, опосредованными рецептором инсулина, рецептором трансферрина, рецептором лептина, рецептором липопротеинов и рецептором ИФР транспортными системами). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит единственный сайт связывания мишени, связанной с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2, 3, 4, 5 или большее количество единственных сайтов связывания мишени, связанной с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, расположенных на мозговой стороне ГЭБ (в спинномозговой жидкости). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело дополнительно связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, расположенных на мозговой стороне ГЭБ (в спинномозговой жидкости). Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связанных с неврологическим заболеванием или расстройством. Согласно конкретным вариантам реализации указанное неврологическое заболевание или расстройство выбрано из рака головного мозга, нейродегенеративного заболевания, шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БАС, рассеянного склероза, оптиконейромиелита и нейро-СПИДа (например, ВИЧ-ассоциированной деменции). Соответственно, настоящее изобретение охватывает способы лечения пациента путем введения терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции для лечения неврологического заболевания или расстройства, выбранного из рака головного мозга, нейродегенеративного заболевания, шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БАС, рассеянного склероза, оптиконейромиелита и нейро-СПИДа (например, ВИЧ-ассоциированной деменции). Согласно еще одному варианту реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения рака головного мозга, метастатического рака головного мозга или первичного рака головного мозга. Согласно дополнительным вариантам реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения неврологической опухоли, такой как глиома (например, глиобластома, мультиформной глиобластома (GBM) и астроцитомы), эпендимомы, олигодендроглиомы, нейрофибромы, саркома, медуллобластома, примитивная нейроэктодермальная опухоль, аденома гипофиза, нейробластома или рак мозговых оболочек (например, менингиома, менингосаркома и глиоматоз). Согласно конкретным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает способы лечения пациента путем введения терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции для лечения нейродегенеративного заболевания.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает опосредованную эндогенным рецептором ГЭБ транспортную систему, выбранную из опосредованных рецептором инсулина, рецептором трансферрина, рецептором лептина, рецептором липопротеинов и рецептором ИФР транспортных систем.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает рецептор трансферрина. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает мишень, выбранную из рецептора липопротеинов низкой плотности 1 (LRP-1), лиганда LRP-1 или его функционального фрагмента или варианта, который связывает LRP-1, рецептора липопротеинов низкой плотности 2 (LRP-2), лиганда LRP-2 или его функционального фрагмента или варианта, который связывает LRP-1, белка трансферрина или его функционального фрагмента или варианта, рецептора инсулина, TМЕМ30А, рецептора лептина, рецептора ИФР, лиганда рИФР или его функционального фрагмента или варианта, рецептора дифтерийного токсина, лиганда рецептора дифтерийного токсина или его функционального фрагмента или варианта, транспортера холина, комплекса, который связывает рецептор холина, транспортера аминокислот (например, LAT1/CD98, SLC3A2, и SLC7A5), лиганда транспортера аминокислот или его функционального фрагмента или варианта, рецептора конечных продуктов гликозилирования (RAGE), лиганда RAGE или его функционального фрагмента или варианта, SLC2A1 и лиганда SLC2A1 или его функционального фрагмента или варианта.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает рецептор конечных продуктов гликозилирования (RAGE). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает RAGE и мишень, выбранную из А-β, эндотелина 1, ФНО, ИЛ-6, МКФР, AGE, члена семейства S100, белка группы высокой мобильности бокс-1 (HMGB1), ЛПС и TLR2. Мультивалентные и мультиспецифические компози-

ции, которые связывают RAGE и также связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает RAGE.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает целевой антиген, связанный с опосредованной эндогенным рецептором гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) транспортной системой, и также связывает целевой антиген, выбранный из α -синуклеина, молекулы A семейства RGM (RGM A), NOGO A, рецептора NOGO (NgR), миеллина гликопротеина олигодендроцитов (OMGp), миелин-ассоциированного гликопротеина (MAG), протеогликана хондроитинсульфата (CSPG), ингибирующих рост нейритов семафоринов (например, семафорина 3A и семафорина 4), эфрина, A- β , AGE (S100 A, амфотерина), HPF, растворимого A-B, агтрекана, мидкина, нейрокана, версикана, фосфакана, Те38 и простагландина E2 (PGE2), ИЛ-1, pИЛ-1, ИЛ-6, pИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-23, TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганда CD40), CD45RB, CD52, CD200, ФРЭС, VLA4, ФНО-альфа, интерферона гамма, ГМКСФ, ФРФ, C5, CXCL13, CCR2, CB2, воспалительный белок 1- α макрофагов (MIP 1a) и моноцитарного хемоаттрактанта белка-1 (MCP-1). Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит единственный сайт связывания мишени, связанной с опосредованной эндогенным рецептором гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) транспортной системой и дополнительно связывает мишень, выбранную из α -синуклеина, RGM A, NOGO A, NgR, OMGp, MAG, CSPG, ингибирующих рост нейритов семафоринов (например, семафорина 3A и семафорина 4), эфрина, A- β , AGE (S100 A, амфотерин), HPF, растворимого A-B, агтрекана, мидкина, нейрокана, версикана, фосфакана, Те38, простагландина E2 (PGE2), ИЛ-1, pИЛ-1, ИЛ-6, pИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-23, TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганда CD40), CD45RB, CD52, CD200, ФРЭС, VLA4, ФНО- α , интерферона- γ , ГМКСФ, ФРФ, C5, CXCL13, CCR2, CB2, MIP 1a и MCP-1.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят пациенту для лечения неврологического заболевания или расстройства, выбранного из рака головного мозга, нейродегенеративного заболевания, шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БАС, рассеянного склероза, оптиконейромиелита и нейро-СПИДа (например, ВИЧ-ассоциированной деменции). Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания 2 или более перечисленных выше мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания 3 или большего количества мишеней. Согласно дополнительным вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с раковым заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с 1, 2, 3, 4, 5 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с раковым заболеванием. Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает интегрин. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело выбрано из MEDI-522 к $\alpha v\beta 3$ (VITAXIN®, MedImmune), CNTO 95 к $\alpha 5\beta 3$ (Centocor), JC7U к $\alpha v\beta 3$ и волоциксимаба к $\alpha 5\beta 1$ (например, M200, PDL и Biogen Idec). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, выбранное из MEDI-522, CNTO 95, JC7U $\alpha v\beta 3$ и волоциксимаба. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание интегрина антителом, выбранным из MEDI-522, CNTO 95, JC7U и M200. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой натализумаб (например, TSABRI®, Biogen Idec). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и натализумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание интегрина натализумабом. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает cMet. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело выбрано из MetMab (OA-5D5, Genentech), AMG-102 (Amgen) и DN30. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, выбранное из MetMab), AMG-102 и DN30. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует cMET связывание антителом, выбранным из MetMab (OA-5D5), AMG-102 и DN30. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или 3 из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает cMet и антитело, выбранное из 11E1, CE-355621, LA480 и LMH87. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, выбранное из MetMab), AMG-102 и DN30. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует cMET связывание антителом, выбранным из 11E1, CE-355621, LA480 и LMH87. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3 или 4 указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает cMET и мишень, выбранную из ErbB2, ErbB3, рЭФР, рИФР-1, NRP1, RON, рТцФР-А, рТцФР-В, ФРЭС, рФРЭС-1, рФРЭС-2, ТФР-β, рецептора-2 ТФР-β, CD82, CD152, НРФ, BMP2, BMP4, BMP5, BMP9, BMP10, BMPR-1A, ALK1, α3b1 интегрин и ФРГ. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают cMET и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает cMET. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой антитело, выбранное из MetMab, AMG-102 и DN30. Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой антитело, выбранное из 11E1, CE-355621, LA480 и LMH87.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает рецептор стимулирующего макрофаги белка 1 (MST1R, RON). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает RON и мишень, выбранную из рЭФР, ErbB2, ErbB3, рецептора ФРЭС-1, рецептора ФРЭС-2, cMET, CXCR4, ФРЭС, MST, MTSP1, CDCP1, рецептора В-эфрина 2 (EPHB2), НРФ, CXCL12 и ФРГ (SF). Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают MST1R и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает MST1R. Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает ФРГ (SF). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой AMG-102 (Amgen) или SCH 900105 (AV-229, AVEO). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и AMG-102 (Amgen) или SCH 900105 (AV-229, AVEO). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание ФРГ AMG-102 (Amgen) или SCH 900105 (AV-229, AVEO). MRD, конкурирующий за связывание мишени с AMG-102 (Amgen) или SCH 900105 (AV-229, AVEO), также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или 3 из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФРГ и мишень, выбранную из ErbB2, ErbB3, рЭФР, рИФР-1, NRP1, RON, рТцФР-А, рТцФР-В, ФРЭС, рФРЭС-1, рФРЭС-2, ТФР-β, рецептора 2 ТФР-β, CD82, CD152, НРФ, BMP2, BMP4, BMP5, BMP9, BMP10, BMPR-1A, ALK1, интегрин α3b1, cMET, MST1R (RON), CXCR4, MST, MTSP1, CDCP1, EPHB2, НРФ, CXCL12, NRP1 и фосфатидилсерина. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФРГ и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФРГ. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой AMG-102 или SCH 900105.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает интегрин α5b1 (VLA5). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой волоциксимаб (например, M200 Biogen Idec). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и волоциксимаб. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание интегрин α5b1 волоциксимабом. MRD, конкурирующий за связывание интегрин α5b1 с волоциксимабом, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание интегрин α5b1 с волоциксимабом, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно еще одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой антиген, связанный с аутоиммунным расстройством, воспалительным или другим расстройством иммунной системы или связан с регуляцией иммунного ответа.

Согласно другому варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело повышает эффек-

тивность антигенпрезентирующих клеток (например, дендритных клеток). Согласно одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела выбрано из CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD27, CD28, CD30, CD30L, TNFSF14 (LIGHT, лиганд HVEM), CD70, ICOS, ICOSL (B7-H2), CTLA4, PD-1, PDL1 (B7-H1), B7-H4, B7-H3, PDL2 (B7-DC), BTLA, CD46, CD80 (B7-1), CD86 (B7-2), HLA-DR, CD74, PD1, TNFRSF 4 (OX40), TNFRSF 9 (41BB), TNFSF4 (лиганд OX40), TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFRSF 1B (TNFR2), TNFRSF 13B (TACI), TNFRSF13C (BAFFR), TNFRSF 17 (BCMA), TNFRSF 18 (GITR), MHC-1, TNFRSF5 (CD40), TLR4, TNFRSF 14 (HVEM), Fc-γ-IIIb и IL4R. Согласно одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой иммуноингибирующую мишень, выбранную из ИЛ-1, ИЛ-1-β, pИЛ-1a, L-5, ИЛ-6, pИЛ-6, CD26L, CD28, CD80, FcRn и рецептора IIb Fc-γ. MRD, который связывается с одной из перечисленных выше мишеней, охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает простагландин E2 (PGE2). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает pИЛ-6 и мишень, выбранную из pЭФР, pИФР-1, pИЛ-6, ФНО, ИФН-β, ИЛ-1-β, ИЛ-6, ИЛ-17A, ФРЭС, ИЛ-15, ИЛ-18, S1P и A-β. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают PGE2 и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает PGE2.

Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело модулирует иммунный ответ, гомеостаз иммунных клеток или поддержание иммунологической толерантности за счет мультиспецифического и мультивалентного связывания растворимых молекул, молекул клеточной поверхности или ассоциированных с внеклеточным матриксом молекул. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает один или большее количество цитокинов или хемокинов, модулирующих иммунный ответ, гомеостаз иммунных клеток или поддержание иммунологической толерантности. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает один или большее количество цитокинов или хемокинов, выбранных из ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, ИЛ-35, ИФН-γ, ИФН-α, ИФН-β, CCL17, CCL21, CCL22, CXCL9, CXCL10, CXCL11, ТФР-β, LIGHT и TL1a. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает хемокин, который модулирует иммунный ответ за счет миграции иммунных клеток. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает хемокин, выбранный из CCL17, CCL22 и CCL21. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает комбинацию растворимых факторов, модулирующих активность Т-лимфоцитов. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает комбинацию растворимых факторов, выбранную из IL2 и ИФН-γ; IL2 и ИФН-α; IL2 и ТФР-β1; ИФН-γ и ТФР-β1; и ИФН-α и ТФР-β1. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает растворимый фактор, который модулирует экспрессию CD25 или внутриклеточную экспрессию FOXP3 в Т-лимфоцитах. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает два, три, четыре, пять или шесть цитокинов или хемокинов, модулирующих иммунный ответ, гомеостаз иммунных клеток или факторы поддержания иммунологической толерантности.

Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество ассоциированных с клеточной поверхностью молекул, модулирующих иммунный ответ, гомеостаз иммунных клеток, или поддержание иммунологической толерантности. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество ассоциированных с клеточной поверхностью молекул, выбранных из лиганда-1 белка программируемой смерти (PDL1), PDL2, PD1, CD80, CD86, CTLA4, B7-H2, ICOS, B7-H3, B7-H4, HVEM, BTLA, MHC класса I, MHC класса II, KIR, TCR-α, TCR-β, TCR-γ, LAG3, CD137, C137L, OX40, OX40L, CD70, CD27, CD40, CD40L, GAL9, TIM3, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10 и A2aR. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество молекул клеточной поверхности, влияющих на миграцию иммунных клеток. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает молекулу, выбранную из CCR4, CCR7 и CXCR3. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает комбинацию молекул клеточной поверхности, модулирующую функцию Т-лимфоцитов. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает комбинацию растворимых факторов, выбранную из CD25 и CTLA4; PD1 и CTLA4; B7-H3 и B7-H3R; B7-H4 и B7H4R; BTLA и HVEM; KIR и LAG3; A2aR и TIM3; TIM3 и CTLA4; PDL1 и PD1; PDL2 и PD1 и CD80 и CD86. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело действует как антагонист двух или более ингибирующих сигналов, достав-

ляемых в Т-лимфоциты через ингибирующие рецепторы. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело действует как антагонист двух или более ингибирующих сигналов, доставляемых в Т-лимфоциты, включая сигнал, доставляемый через ингибирующий рецептор, выбранный из: PD1, CTLA4, BTLA, HVEM, KIR, LAG3, TIM3 и A2aR. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело усиливает костимулирующие сигналы, доставляемые в Т-лимфоциты через один или большее количество костимулирующих рецепторов. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело усиливает два или большее количество костимулирующих сигналов, доставляемых в Т-лимфоциты, включая сигнал, доставляемый через костимулирующий рецептор, выбранный из CD28, ICOS, OX40 и CD27. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает молекулу, которая модулирует экспрессию CD25 или FOXP3 в Т-лимфоцитах. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает молекулу, которая модулирует экспрессию CD39 на Т-лимфоцитах. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает две, три, четыре, пять или шесть ассоциированных с клеточной поверхностью молекул, модулирующих иммунный ответ, гомеостаз иммунных клеток или поддержание иммунологической толерантности.

Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество молекул клеточной поверхности экспрессируемых на антигенпрезентирующих клетках. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество молекул клеточной поверхности, выбранных из PDL1, PDL2, CD80, CD86, B7RP1, B7-H3, B7-H4, HVEM, CD137L, OX40, CD70 и GAL3. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает молекулу на антигенпрезентирующих клетках, модулирующую экспрессию CD25 или FOXP3 в Т-лимфоцитах человека. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает комбинацию молекул на поверхности вспомогательной клетки. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает комбинацию молекул, выбранную из CD80 и CD86; B7-H3 и B7-H4; PDL1 и PDL2; HVEM и B7-H2; CD137L и HVEM; GAL9 и OX40L; HVEM, PDL1 и PDL2; CD80, CD86 и HVEM; и B7-H3, B7-H4 и B7-H2. MRD-содержащее антитело может связывать одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или большее количество молекул клеточной поверхности, экспрессируемых на антигенпрезентирующих клетках. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество молекул клеточной поверхности на поверхности антигенпрезентирующих клеток и одну или большее количество молекул клеточной поверхности, экспрессируемых на поверхности Т-лимфоцитов. MRD-содержащее антитело может связывать комбинацию одной, двух, трех или четырех молекул клеточной поверхности, экспрессируемых на поверхности антигенпрезентирующих клеток человека, и одной, двух, трех или четырех молекул клеточной поверхности, экспрессируемых на поверхности Т-лимфоцитов человека. Согласно предпочтительному варианту реализации указанная комбинация молекул, связываемая указанным MRD-содержащим антителом, оказывает общие костимулирующие или ингибирующие эффекты на Т-лимфоциты. Согласно другому предпочтительному варианту реализации указанная комбинация молекул, связываемая указанным MRD-содержащим антителом, стабилизирует межклеточные контакты между иммунными клетками.

Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело действует как антагонист функции регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) за счет антагонистического действия на растворимые молекулы и/или рецепторы клеточной поверхности. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество растворимых молекул и/или один или большее количество рецепторов клеточной поверхности, которые согласованным образом усиливают функцию Treg. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает клетки Treg и ингибирует их функцию. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает клетки Treg и усиливает их функцию. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество молекул, выбранных из PDL1, PDL2, PD1, CD80, CD86, CTLA4, B7-H2, ICOS, B7-H3, B7-H4, HVEM, BTLA, MHC класса I, MHC класса II, KIR, TCR- α , TCR- β , TCR- γ , LAG3, CD137, CD137L, OX40, OX40L, CD70, CD27, CD40, CD40L, GAL9, TIM3, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10 и A2aR. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает клетки Treg и действует как антагонист активности растворимого фактора, которые действуют на клетки Treg.

Мультивалентные и мультиспецифические связывающие свойства MRD-содержащих антител согласно настоящему изобретению позволяют осуществлять рациональный дизайн терапевтических средств, преимущественно направляющих *in vivo* локализацию MRD-содержащего антитела в специфические анатомические области, где присутствует мишень антитела и/или MRD-компонентов MRD-содержащих антител. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело локализуется в области воспаления путем связывания антитело-комбинирующего сайта с молекулой, для которой характерна повышенная экспрессия в области воспаления. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт связывает молекулу, выбранную из: молекулы

адгезии, интегрин, *madCam*, CD44 и CD45. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело дополнительно содержит MRD, который связывается с молекулой клеточной поверхности на Treg, которая усиливает активность Treg. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает костимулирующий рецептор, выбранный из CD28, ICOS, OX40 и CD27. Согласно конкретным вариантам реализации сродство к связыванию MRD-содержащего антитела в отношении мишени в сайте воспаления *in vivo* по меньшей мере в 3, по меньшей мере в 10, по меньшей мере в 30 или по меньшей мере в 100 раз выше сродства MRD-содержащего антитела в отношении молекулы клеточной поверхности Treg. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ преимущественной нацеленной локализации *in vivo* MRD-содержащего антитела в место локализации опухоли. Согласно некоторым вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт MRD-содержащего антитела связывает опухолассоциированный антиген, а MRD MRD-содержащего антитела связывает молекулу клеточной поверхности на Treg, которая подавляет функцию Treg. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает костимулирующий рецептор, выбранный из PD1, CTLA4, BTLA, HVEM, KIR, LAG3, TIM3 и A2aR. Согласно еще одному варианту реализации указанный антитело-комбинирующий сайт MRD-содержащего антитела связывает опухолассоциированный антиген, а MRD связывает молекулу клеточной поверхности на Treg, которая подавляет функцию Treg. Согласно дополнительному варианту реализации указанный антитело-комбинирующий сайт связывает опухолассоциированный антиген, а MRD MRD-содержащего антитела связывает молекулу клеточной поверхности на эффекторных Т-лимфоцитах, которая усиливает активность эффекторных Т-клеток. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает костимулирующий рецептор, выбранный из CD28, ICOS, OX40 и CD27. Согласно конкретным вариантам реализации сродство к связыванию MRD-содержащего антитела в отношении опухолассоциированного антигена *in vivo* по меньшей мере в 3, по меньшей мере в 10, по меньшей мере в 30 или по меньшей мере в 100 раз выше сродства MRD-содержащего антитела в отношении молекулы клеточной поверхности Treg. Согласно дополнительному варианту реализации указанный антитело-комбинирующий сайт и/или MRD MRD-содержащего антитела связывает опухолассоциированный антиген, который доставляет ингибирующий сигнал в Т-лимфоцит. Согласно конкретным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD80 или CD86. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает B7H1, B7H3 или B7H4.

Согласно другому варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой иммуностимулирующую мишень (например, агонист ассоциированной с мишенью активации иммунных клеток (такой как TNFRSF9 (41BB) или TNFRSF5 (CD40)) или антагонист ингибирующей иммунной контрольной точки (такой как ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA-4)). Согласно одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой иммуностимулирующую мишень, выбранную из: CD25, CD28, CTLA-4, PD1, PDL1, B7-H1, B7-H4, ИЛ-10, ТРФ-β, TNFSF4 (лиганд OX40), TNFRSF 4 (OX40), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFRSF5 (CD40), TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF 9 (41BB), TNFSF14 (LIGHT, лиганд HVEM), TNFRSF 14 (HVEM), TNFSF15 (TL1A), TNFRSF25 (DR3), TNFSF18 (лиганд GITR) и TNFRSF 18 (GITR). Согласно еще одному варианту реализации указанная мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой иммуностимулирующую мишень, выбранную из CD272 (BTLA), TIM3, GAL9, B7-DC (PDL2), и рецептор PDL2. MRD, который связывается с одной из перечисленных выше мишеней, охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает 2, 3 или все 4 мишени, выбранные из CTLA-4, TNFRSF 18 (GITR), 4-1BB и TNFRSF5 (CD40). Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает CTLA-4 и TNFRSF 9 (41BB). Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает CTLA-4 и TNFRSF 18 (GITR). Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает CTLA-4 и TNFRSF5 (CD40). Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает TNFRSF5 (CD40) и TNFRSF 9 (41BB). Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает TNFRSF 4 (OX40) и TNFRSF 9 (41BB). Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает PD1 и B7-H1. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело усиливает иммунный ответ, такой как противоопухолевый ответ иммунной системы или иммунный ответ на вакцину.

Согласно другому варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой цитокин, выбранный из ИЛ-1-α, ИЛ-1-β, ИЛ-18, TNFSF2 (ФНО-α), лимфотоксина альфа (LT-α), лимфотоксина бета (LT-β), TNFSF11 (RANKL), TNFSF13B (BLYS), TNFSF13 (APRIL), ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17A, ИЛ-23, онкостатина М, ТРФ-β, BMP2-15, ТцФР (например, ТцФР-А, ТцФР-

В, ТцФР-СС, ТцФР-С, ТцФР-D), члена семейства ФРФ (например, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b и ФРФ-19), ФРЭС (например, ФРЭС-А и ФРЭС-В), MIF и интерферона типа I. MRD, который связывается с одной из перечисленных выше мишеней, охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 из перечисленных выше мишеней.

Согласно другому варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой цитокин, выбранный из ФНО, CD25, CD28, CTLA-4, PD1, PDL1, B7-H1, B7-H4, ИЛ-10, ТРФ-β, TNFSF4 (лиганд OX40), TNFRSF 4 (OX40), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFRSF5 (CD40), TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF9 (41BB), TNFSF14 (LIGHT, лиганд HVEM), TNFRSF14 (HVEM), TNFSF15 (TL1A), TNFRSF25 (DR3), TNFSF18 (лиганд GITR) и TNFRSF 18 (GITR). Настоящим изобретением охвачен MRD, который связывается с одной из перечисленных выше мишеней. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются по меньшей мере с 1, 2, 3, 4, 5, 6 из перечисленных выше мишеней.

Согласно одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой pИЛ-1a, pИЛ-1b, ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-10, ИЛ-11, ИЛ-15, ИЛ-16, ИЛ-17, ИЛ-17A, ИЛ-17F, ИЛ-18, ИЛ-19, ИЛ-25, ИЛ-32, ИЛ-33, интерферон-β, SCF, BCA1/CXCL13, CXCL1, CXCL2, CXCL6, CXCL13, CXCL16, C3AR, C5AR, CXCR1, CXCR2, CXCR3 CCR1, CCR3, CCR4, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, ChemR23, CCL3, CCL5, CCL11, CCL13, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, MPL, гликопротеин 130 (GP130), TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8, TLR9, TREM1, TREM2, FcRn, Fc-γ-RIIB, онкостатин М, лимфотоксин альфа (LTα), субъединицу интегрина β7, CD49a (интегрин α1), интегрин α5β3, MIF, ESM1, WIF1, катепсин В, катепсин D, катепсин К, катепсин S, TNFSF2 (ФНО-α), TNFSF3 (LTβ), TNFRSF 3 (LTBR), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF6B (DcR3), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFRSF8 (CD30), TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF 9 (41BB), TNFSF11 (RANKL), TNFRSF11A (RANK), TNFSF14 (LIGHT, лиганд HVEM), TNFRSF 14 (HVEM), TNFRSF 16 (NGFR), TNFSF18 (лиганд GITR), TNFRSF 18 (GITR), TNFRSF19L (RELT), TNFRSF19 (TROY), TNFRSF21 (DR6), CD14, CD23 CD25, CD28, CD36, CD36L, CD39, CD52, CD91, CD153, CD164, CD200, CD200R, BTLA, CD80 (B7-1), CD86 (B7-2), B7h, ICOS, ICOSL (B7-H2), MHC, CD, B7-H3, B7-H4, B7x, SLAM, KIM-1, SLAMF2, SLAMF3, SLAMF4, SLAMF5, SLAMF6 или SLAMF7. MRD, который связывается с одной из перечисленных выше мишеней, охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются по меньшей мере с 1, 2, 3, 4, 5, 6 из перечисленных выше мишеней. Предполагается, что перечисленные выше мишени антител и MRD и описанные в других разделах настоящего документа являются иллюстративными и неограничивающими.

Согласно еще одному варианту реализации указанная мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой TNFSF1A (ФНО/ФНО-α), TNFRSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFRSF 1B (TNFR2), TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), TNFRSF 7 (CD27), TNFSF13B (BLYS), TNFSF13 (APRIL), TNFRSF 13B (TACI), TNFRSF13C (BAFFR), TNFRSF17 (BCMA), TNFSF15 (TL1A), TNFRSF25 (DR3), TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF12 (TWEAKR), TNFSF4 (лиганд OX40), TNFRSF 4 (OX40), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFRSF5 (CD40), ИЛ-1, ИЛ-1-β, pИЛ-1, pИЛ-2, ИЛ-4-Ra, ИЛ-5, pИЛ-5, ИЛ-6, pИЛ-6, ИЛ-9, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-14, ИЛ-15, pИЛ-15, ИЛ-17f, pИЛ-17, pИЛ-17b, pИЛ-17C, ИЛ-20, ИЛ-21, α-рецептор ИЛ-22 (pИЛ-22-A), ИЛ-23, pИЛ-23, ИЛ-31, тиусный стромальный лимфопоэтин (TSLP), рецептор TSLP (TSLPR), интерферон α, интерферон γ, B7RP-1, cKit, ГМКСФ, pГМКСФ, CTLA-4, CD2, CD3, CD4, CD11a, CD18, CD20, CD22, CD26L, CD30, TNFRSF5 (CD40), CD80, CD86, CXCR3, CXCR4, CCR2, CCR4, CCR5, CCR8, CCL2, CXCL10, ПФР, PD1, B7-DC (PDL2), B7-H1 (PDL1), интегрин α-4, интегрин A4B7, C5, RhD, IgE или Rh. MRD, который связывается с одной из перечисленных выше мишеней, охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по

меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются по меньшей мере с 1, 2, 3, 4, 5, 6 из перечисленных выше мишеней. Согласно конкретным вариантам реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание мишени с: SGN-70 к CD70 (Seattle Genetics), SGN-75 к CD70 (Seattle Genetics), белимумабом к BLYS (например, BENLYSTA®, Human Genome Sciences/GlaxoSmithKline), атацисептом к BLYS/APRIL (Merck/Serono), TWEAK (например, Biogen mAb), антителами к TL1A от CoGenesys/Teva (например, hum11D8, hum25B9 и hum1B4 (опубликованная заявка на патент США № 2009/0280116)), моноклональным антителом к OX40, моноклональным антителом человека к OX40L (Genentech), рилонцептом к ловушке ИЛ-1 (например, ARCALYST®, Regeneron), катумаксумабом к ИЛ-1-β (например, REMOVAB®, Fresenius Biotech GmbH), Хома052 к ИЛ-1-бета (Lilly), канакинумабом к ИЛ-1-β (например, ILARIS® (Novartis) и ACZ885 (Novartis)), AMG108 к pИЛ-1 (Amgen), даклизумабом к pИЛ-2a (например, ZENAPAX®, Hoffman-La Roche), базиликсимабом к pИЛ-2a (например, SIMULECT®, Novartis), AMGN-317 к ИЛ-4a (Amgen), пасколизумабом к ИЛ-4 (PDL), меполизумабом к ИЛ-5 (например, BOSATRIA®, GlaxoSmithKline), реслизумабом к ИЛ-5 (например, SCH55700, Ception Therapeutics), бенрализумабом к pИЛ-5 (например, MEDI-563 MedImmune), BIW-8405, pИЛ-5 (BioWa), этанерцептом к pИФР-2- fc (например, ENBREL®, Amgen), силтуксимабом к ИЛ-6 (например, CNTO328, Centocor), CNTO136 к ИЛ-6 (Centocor), CDP-6038 к ИЛ-6 (UCB), AMGN-220 к ИЛ-6 (Amgen), REGN-88 к pИЛ-6 (Regeneron), тоцилизумабом к pИЛ-6 (например, АСТЕМРА™/ROАСТЕМРА™, Chugai/Roche), MEDI-528 к ИЛ9 (MedImmune), бриакинумабом к ИЛ-12/13 (например, ABT-874, Abbott), устекинумабом к ИЛ-12, ИЛ-23 (например, STELARA® и CNTO 1275, Centocor), TNX-65 к ИЛ-13 (Тапох), лебрикизумабом к ИЛ-13 (Genentech), тралокинумабом к ИЛ-13 (например, CAT354, например, Cambridge Antibody Technology), AMG714 к ИЛ-15 (Amgen), CRB-15 к pИЛ-15 (Hoffman La-Roche), AMG827 к pИЛ-17 (Amgen), антителом к pИЛ-17C от Zymogenetics/Merck Serono, антителом к ИЛ-20 от Zymogenetics, антителом к ИЛ-20 от Novo Nordisk, антителом к ИЛ-21 от Novo Nordisk (например, NCT01038674), антителом Zymogenetics к ИЛ-21 (Zymogenetics), антителом к pИЛ-22-A от Zymogenetics, антителом к ИЛ-31 к Zymogenetics, AMG157 к TSLP (Amgen), MEDI-545 к интерферону- α (MedImmune), MEDI-546 к рецептору интерферона- α (MedImmune), AMG811 к интерферону- γ (Amgen), INNO202 к интерферону- γ (Innogenetics/Advanced Biotherapy), HuZAF к интерферону- γ (PDL), AMG557 к B7RP1 (Amgen), AMG191 к ciKt (Amgen), MOR103 к ГМКСФ (MorphoSys), маврилиумабом к pГМКСФ (например, CAM-3001, MedImmune), тремелиумабом к CTLA4 (например, CP-675,206, Pfizer), иплиумабом к CTLA4 (например, MDX-010, BMS/Medarex), алефасептом к CD2 (например, AMEVIVE®, Astellas), сиплизумабом к CD2 (например, MEDI-507, MedImmune), отеликсизумабом к CD3 (например, TRX4, Tolerx/GlaxoSmithKline), теплизумабом к CD3 (например, MGA031, MacroGenics/Eli Lilly), визилизумабом к CD3 (например, NUVION®, PDL), муромонабом-CD3 к CD3 (Ortho), ибализумабом (например, TMB-355 и TNX-355, TaiMed Biologies), занулиумабом к CD4 (например, HUMAX-CD4®, от Genmab), цеделизумабом к CD4 (Euroasian Chemicals), келиксимабом к CD4, приликсимабом к CD4 (например, cMT412, Centocor), BT-061 к CD4 (BioTest AG), эфализумабом к CD11a (например, RAPTIVA®/XANELIM™, Genentech/Roche/Merck-Serono), MLN01 к CD18 (Millennium Pharmaceuticals), эпратузумабом к CD22 (например, антителом Amgen) и hLL2; (Immunomedics/UCB)), аселизумабом к CD26L, иратуумабом к CD30 (например, SGN30 (Seattle Genetics) и MDX-060 (Medarex), SGN40 к CD40 (Seattle Genetics), ANTOVA® к лиганду CD40 (Biogen Idec), абатацептом к CD80 и CD86 (например, ORENCIA®, Bristol-Myers Squibb), CT-011 к PD1 (Cure Tech), GITR (например, TRX518, Tolerx), AT010 к CXCR3 (Affitech), MLN1202 к CCR2 (Millennium Pharmaceuticals), AMG-761 к CCR4 (Amgen), HGS004 к CCR5 (Human Genome Sciences), PRO 140 (Progenies), MDX-1338 к CXCR4 (Medarex), CNTO-888 к CCL2 (Centocor), ABN912 к CCL2 (Novartis), MDX-1100 к CXCL10 (Medarex), TB-403 к ПФР (BioInvent), натализумабом к субъединице интегрин- α 4 (например, TYSABRI®, Biogen Idec/Elan), ведолизумабом к интегрину A4B7 (например, MLN2, Millennium Pharmaceuticals/Takeda), экулизумабом к фактору комплемента C5 (например, SOLIRIS®, Alexion), пекселизумабом к фактору комплемента C5 (Alexion), омализумабом к IgE (например, XOLAIR®, Genentech/Roche/Novartis), тализумабом (например, TNX-901, Тапох), торализумабом (IDEC 131, IDEC), бертилиумабом к эотаксину (например, iCo-008, iCos Therapeutics Inc.), озролимумабом к RhD (например, Sym001, Symphogen A/S), аторолимумабом или моролимумабом (Rh-фактор). MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени по меньшей мере с 1, 2, 3, 4, 5 или 6 из указанных выше антител. Согласно конкретным вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела представляет собой SGN-70 к CD70 (Seattle Genetics), SGN-75 к CD70 (Seattle Genetics), белимумаб к BLYS (например, BENLYSTA®, Human Genome Sciences/GlaxoSmithKline), BIIB023

к TWEAK (Biogen Idec), антитела к TL1A от CoGenesys/Teva (например, 11D8, 25B9 и 1B4 (опубликованная заявка на патент США № 2009/0280116), моноклональное антитело к OX40, моноклональное антитело человека к OX40L (Genentech), катумаксумаб к ИЛ-1 β (например, REMOVAB®, Fresenius Biotech GmbH), канакинумаб к ИЛ-1 β (например, ILARIS® (Novartis) и ACZ885 (Novartis)), AMG108 к pИЛ-1 (Amgen), даклизумаб к pИЛ-2a (например, ZENAPAX®, Hoffman-La Roche), базиликсумаб к pИЛ-2a (например, SIMULECT®, Novartis), AMGN-317 к ИЛ-4a (Amgen), пасколизумаб к ИЛ-4 (PDL), меполизумаб к ИЛ-5 (например, BOSATRIA®, GlaxoSmithKline), реслизумаб к ИЛ-5 (например, SCH55700, Seption Therapeutics), бенрализумаб к pИЛ-5 (например, MEDI-563, MedImmune), BIW-8405, pИЛ-5 (BioWa), силтуксумаб к ИЛ-6 (например, CNTO328, Centocor), CNTO-136 к ИЛ-6 (Centocor), CDP-6038 к ИЛ-6 (UCB), AMGN-220 к ИЛ-6 (Amgen), REGN-88 к pИЛ-6 (Regeneron), тоцилизумаб к pИЛ-6 (например, АСТЕМРА™/ROАСТЕМРА™, Chugai/Roche), MEDI-528 к IL9 (MedImmune), бриакинумаб к ИЛ-12/13 (например, ABT-874, Abbott), устекинумаб к ИЛ-12, ИЛ-23 (например, CNTO 1275, Centocor), лебрикизумаб к ИЛ-13 (Genentech), TNX-650 к ИЛ-13 (Tанох), CAT354 к ИЛ-13 (Cambridge Antibody Technology), AMG714 к ИЛ-15 (Amgen), CRB-15 к pИЛ-15 (Hoffman La-Roche), AMG827 к pИЛ-17 (Amgen), антитело к pИЛ-17C от Zymogenetics/Merck Serono, антитело к ИЛ-20 от Zymogenetics, антитело к ИЛ-20 от Novo Nordisk, ИЛ-21 антитело от Novo Nordisk, ИЛ-21 антитело Zymogenetics (Zymogenetics), антитело к pИЛ-22-A от Zymogenetics, антитело к ИЛ-31 от Zymogenetics, AMG157 к TSLP (Amgen), MEDI-545 к интерферону- α (MedImmune), MEDI-546 к рецептору интерферона- α (MedImmune), AMG811 к интерферону- γ (Amgen), INNO202 к интерферону- γ (Innogenetics/Advanced Biotherapy), HuZAF к интерферону- γ (PDL), AMG557 к B7RP1 (Amgen), AMG191 к cKit (Amgen), MOR103 к ГМКСФ (MorphoSys), CAM-3001 к pГМКСФ (MedImmune), тремелизумаб к CTLA4 (например, CP-675206, Pfizer), иплизумаб к CTLA4 (например, MDX-010, BMS/Medarex), сиплизумаб к CD2 (например, MEDI-507, MedImmune), отеликсизумаб к CD3 (например, TRX4, Tolerx/GlaxoSmithKline), муромонаб-CD3 к CD3 (Ortho), теплизумаб к CD3 (например, MGA031, MacroGenics/Eli Lilly), визилизумаб к CD3 (например, NUVION®, PDL), занулимумаб к CD4 (например, HUMAX-CD4®, от Genmab), цеделизумаб к CD4 (Euroasian Chemicals), келиксумаб к CD4, приликсумаб к CD4 (например, cMT412, Centocor), BT-061 к CD4 (BioTest AG), ибализумаб (например, TMB-355 и TNX-355, TaiMed Biologies), эфализумаб к CD11a. (например, RAPTIVA®/XANELIM™, Genentech/Roche/Merck-Serono), MLN01 к CD18 (Millennium Pharmaceuticals), эпратузумаб к CD22 (например, антитело Amgen) и hLL2 (Immunomedics/UCB), аселизумаб к CD26L, иратумумаб к CD30 (например, SGN30 (Seattle Genetics) и MDX-060 (Medarex), SGN40 к CD40 (Seattle Genetics), ANTOVA® к лиганду CD40 (Biogen Idec), CT-011 к PD1 (Cure Tech), AT010 к CXCR3 (Affitech), MLN3897 к CCR1 (Millennium Pharmaceuticals), MLN1202 к CCR2 (Millennium Pharmaceuticals), AMG-761 к CCR4 (Amgen), HGS004 к CCR5 (Human Genome Sciences), PRO 140 (Progenies), MDX-1338 к CXCR4 (Medarex), CNTO-888 к CCL2 (Centocor), ABN912 к CCL2 (Novartis), MDX-1100 к CXCL10 (Medarex), TB-403 к ПФР (BioInvent), натализумаб к субъединице интегрин α -4 (например, TYSABRI®, Biogen Idec/Elan), ведолизумаб к интегрину A4B7 (например, MLN02, Millennium Pharmaceuticals/Takeda), экулизумаб к фактору комплемента C5 (например, SOLIRIS®, Alexion pharmaceuticals), омализумаб к IgE (например, XOLAIR®, Genentech/Roche/Novartis), тализумаб (например, TNX-901, Tанох), торализумаб (IDEC 131, IDEC), бертилизумаб к эотаксину (например, iCo-008, iCo Therapeutics Inc.), озролимумаб к RhD (например, Sym001, Symphogen A/S), аторолимумаб или моролимумаб (Rh фактор).

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мишень антитела MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание мишени с антителом, выбранным из окселумаба (например, RG4930; Genmab), AMG139 (Amgen), AMG181 (Amgen), CNTO 148 к ФНО (Medarex), антителом против ФНО, описанным в патенте США № 6258562 (BASF), Humicade® к ФНО (Celltech), HuM291CD3 к fc-рецептору (PDL), Mik- β 1 к pИЛ-2- β (CD122) (Hoffman LaRoche), REGN668 к pИЛ-4 (Regeneron), сарилумаба к pИЛ-6 (например, REGN88, Regeneron), HuMax-Inflam к ИЛ-8 (например, HuMax-Inflam™/MDX-018; Genmab и Medarex), антитела против ИЛ-12 и/или против ИЛ-12p40, раскрытого в патенте США № 6914128 (Abbott), HuMax-IL-15 к ИЛ-15 (Medarex и Genmab), ABX-IL8 к ИЛ-8 (Abgenix), антитела против ИЛ-18 раскрытого в опубл. заявке на патент США № 2005/0147610 (Abbott), hCBE-11 к рецептору лимфотоксина- β (LTBR) (Biogen), HuMax-TAC к ИЛ-2R α (CD25) (Genmab, см., например, опубликованную международную заявку № WO 2004045512, MLN01 к интегрину- β 2 (Хома), D3H44 к активирующему фактору транскрипции (ATF) (Genentech), MT203 к ГМКСФ (например, намилумаб, Micro-met и Takeda), IFX1/CaCP29 (InflaRx GmbH), CAT-213 к эотаксину-1 (Cambridge Antibody Technologies), MDX-018 к ИЛ-8 (например, HuMax-Inflam™; Medarex), REGN846 к pИЛ-4 (Regeneron, см., например, опубл. заявку на патент США № 20100291107), REGN728 (Regeneron), RGN846 (Regeneron), T2-18C3 к ИЛ-1A (MABp1; XBiotech), RA-18C3 к ИЛ-1A (XBiotech) и CV-18C3 к ИЛ-1A (XBiotech). MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание

мишени с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени по меньшей мере с 1, 2, 3, 4, 5 или 6 из указанных выше антител.

Согласно дополнительным вариантам реализации одно из описанных выше антител представляет собой антитело из MRD-содержащего антитела.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает CTLA4. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой тремелимуаб (например, CP-675206, Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и тремелимуаб. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание тремелимуаба с CTLA4. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой ипилимуаб (например, MDX-010, Bristol-Myers Squibb/Medarex). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и ипилимуаб. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание ипилимуаба с CTLA4. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание CTLA4 с тремелимуабом или ипилимуабом, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает TNFSF12 (TWEAK). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело к TWEAK от Biogen, доведенное до I фазы клинических испытаний. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело к TWEAK от Biogen. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание антитела к TWEAK от Biogen с TWEAK. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание TWEAK с антителом к TWEAK от Biogen, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает рИЛ-2а (CD25). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой даклизумаб (например, ZENAPAX®). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и даклизумаб. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание даклизумаба с рИЛ-2а (CD25). Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание рИЛ-2а (CD25) с даклизумабом, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает CD40 (TNFRSF5). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой CP-870893 к CD40 (Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и CP-870893. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание CP-870893 с CD40. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание CD40 с CP-870893, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает интегрин α -4. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой натализумаб (например, TYSABRI®; Biogen Idec/Elan). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и натализумаб. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание натализумаба с интегрином α -4. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание интегрин α -4 с натализумабом, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает ИЛ-22. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой PF-5212367 (ILV-094) (Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PF-5212367. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PF-5212367 с ИЛ-22. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание ИЛ-22 с PF-5212367, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает MAdCAM. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представля-

ет собой PF-547659 (Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PF-547659. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PF-547659 с MAdCAM. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание MAdCAM с PF-547659, также охвачены настоящим изобретением. Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает ФНО. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой адалимумаб (например, Хумира®/TRUDEXA®, Abbott). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и адалимумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание адалимумаба с ФНО. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой ATN-103 (Pfizer). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и ATN-103. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание ATN-103 с ФНО. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой инфликсимаб. Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и инфликсимаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание инфликсимаба с ФНО. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело выбрано из цертолизумаба (например, CIMZIA®, UCB), голимумаба (например, Симпони™, Centocor) и AME-527 (Applied Molecular Evolution). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и цертолизумаб, голимумаб или AME-527. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание цертолизумаба, голимумаба или AME-527 с ФНО. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4 или 5 указанными выше антителами, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно некоторым вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе содержит области CDR антитела адалимумаб против ФНО. Последовательности CDR, VH и VL адалимумаба приведены в табл. 3.

Таблица 3

CDR	Последовательность
VL-CDR1	RASQGIRNYLA (SEQ ID NO:80)
VL-CDR2	AATLQS (SEQ ID NO:81)
VL-CDR3	QRYNRAPYT (SEQ ID NO:82)
VH-CDR1	DYAMH (SEQ ID NO:83)
VH-CDR2	AITWNSGHIDYADSEV (SEQ ID NO:84)
VH-CDR3	VSYLSTASSLDY (SEQ ID NO:85)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKL LIYAATLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDVATYYCQRYNR APYTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:86)
VH	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKG LEWVSAITWNSGHIDYADSEVGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:87)

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФНО (т.е. ФНО-α) и дополнительно связывает мишень, выбранную из Te38, ИЛ-12, ИЛ-12p40, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-1-β, ИЛ-23, MIF, PGE2, PGE4, ФРЭС, TNFSF11 (RANKL), TNFSF13B (BLYS), GP130, CD22 и CTLA-4. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФНО-α, ИЛ-6 и TNFSF13B (BLYS). Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФНО-α и TNFSF12 (TWEAK). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ФНО и TNFSF15 (TL1A). Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФНО и дополнительно связывает мишень, выбранную из HPФ, SOST (склеростина), липопротеина (а) (LPA), ИЛ-17A, DKK, αVβ3, ИЛ-23p19, ИЛ-2, pИЛ-2A (CD25), ИЛ-6, pИЛ-6, ИЛ-12p40, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-21, ИЛ-22; и CD20 связывает ФНО. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФНО-α и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФНО-α. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой адалимумаб, инфликсимаб, цертолизумаб, голимумаб, CNTO

148, AME-527 или ATN-103.

Согласно другим вариантам реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой ИЛ-6. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело MRD-содержащего антитела представляет собой силтуксимаб (CNT0328, Centocor), CNT0-136 (Centocor), CDP-6038 (UCB) или AMGN-220 (Amgen). Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела конкурирует с силтуксимабом (CNT0328, Centocor), CNT0-136 (Centocor), CDP-6038 (UCB) или AMGN-220 (Amgen) за связывание с ИЛ-6. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-6. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-6 и мишень, выбранную из ИЛ-1, ИЛ-1-β, рИЛ-1α, ИЛ-5, CD8, TNFRSF5 (CD40), PDL1, рИЛ-6, ИЛ-17A, ФНО, ФРЭС, TNFSF11 (RANKL) и PGE2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ИЛ-6 и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ИЛ-6. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой силтуксимаб, CNT0136, CDP-6038 или AMGN-220. Согласно другим вариантам реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой рИЛ-6. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело MRD-содержащего антитела представляет собой REGN-88 (Regeneron) или тоцилизумаб (ACTEMRA™/ROACTEMRA™, Chugai/Roche). Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела конкурирует с силтуксимабом, REGN-88 (Regeneron) или тоцилизумабом (ACTEMRA™/ROACTEMRA™, Chugai/Roche) за связывание с рИЛ-6. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1 или обоими указанными выше антителами, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рИЛ-6. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рИЛ-6 и мишень, выбранную из CD8, TNFRSF5 (CD40), PDL1, ИЛ-6, ИЛ-17A, ФНО, ФРЭС, TNFSF11 (RANKL) и PGE2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают рИЛ-6 и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рИЛ-6. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой REGN-88 или тоцилизумаб.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает TNFSF15 (TL1A). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает TL1A и мишень, выбранную из ФНО, ИФН-α, ИФН-γ, ИЛ-1, ИЛ-1-β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23 и ИЛ-32. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают TL1A и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Указанные композиции находят применение в лечении заболеваний и расстройств, включающих воспалительное заболевание кишечника и аутоиммунные заболевания, такие как ревматоидный артрит. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает TL1a.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает интерферон-α. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает интерферон-α и TNFSF13B (BLYS). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает интерферон-α, TNFSF13B (BLYS) и нейтрофильную внеклеточную ловушку (NET). Указанные композиции находят применение в лечении заболеваний и расстройств, включающих аутоиммунные заболевания, такие как ревматоидный артрит и системная красная волчанка. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает интерферон-α.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции, предложенные в настоящем изобретении, также находят применение в лечении неврологических заболеваний или расстройств, в том числе нейродегенеративных заболеваний, боли и неврологического повреждения или травмы. Согласно конкретным вариантам реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой: амилоид бета (A-β), β-амилоид, фактор комплемента D, протеолипидный белок (PLP), ROBO4, ROBO, глиальный нейротрофический фактор (GDNF), НРФ, белок, содержащий богатый лейцином повтор и Ig-подобный домен (LINGO) или миостатин. Согласно конкретным вариантам реализации антитело в MRD-

содержащем антителе представляет собой гантенеромаб (например, R1450, Hoffman La-Roche), бапинеизумаб к β -амилоиду 9 (Eli Lilly и Pfizer), соланезумаб к β -амилоиду 9 (Eli Lilly), танезумаб к НРФ (например, RN624, Pfizer), ВІІВ033 к LINGO (Biogen Idec), PF-3446879 к миостатину (Pfizer) или стамулумаб к миостатину (Wyeth). Согласно конкретному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой фулранумаб (например, AMG-403; Amgen/Millennium. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и гантенеромаб, бапинеизумаб, соланезумаб, танезумаб, антитело к LINGO от Biogen или стамулумаб. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и фулранумаб. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание мишени гантенеромабом, бапинеизумабом, соланезумабом, танезумабом, ВІІВ033 или стамулумабом. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание НРФ фулранумабом. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой β -амилоид. Согласно конкретному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой RN1219 (PF-4360365; Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и RN1219. Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание β -амилоида RN1219. MRD, конкурирующий за связывание β -амилоида с RN1219, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание β -амилоида с RN1219, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой НРФ. Согласно конкретному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой танезумаб (например, RN624, Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и танезумаб. Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание НРФ танезумабом. MRD, конкурирующий за связывание НРФ с танезумабом, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание НРФ с танезумабом, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает НРФ и мишень, выбранную из MTX, NKG2D, RON, рІІЛ-6, ErbB3, TNFRSF21 (DR6), CD3, рІІФР, DLL4, P1GF, CD20, рЭФР, HER2, CD19, CD22, TNFRSF5 (CD40), CD80, cMET, NRP1, ФНО, LINGO, ФРГ, ІФР-1, ІФР-1,2, ІФР-2, НРФ, Те38, NogoA, RGM A, MAG, OMGr, NgR, TNFSF12 (TWEAK), PGE2, ІЛ-1- β , семафорина 3А и семафорина 4. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают НРФ и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает НРФ. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой танезумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание НРФ с танезумабом. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой MEDI-578. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание НРФ с MEDI-578.

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой LINGO (например, LINGO1). Согласно конкретному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой ВІІВ033 (Biogen Idec). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и ВІІВ033. Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание LINGO антителом ВІІВ033. MRD, конкурирующий за связывание LINGO с ВІІВ033, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание LINGO с ВІІВ033, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает LINGO и мишень, выбранную из MTX, NKG2D, RON, рІІЛ-6, ErbB3, TNFRSF21 (DR6), CD3, рІІФР, DLL4, P1GF,

CD20, pЭФР, HER2, CD19, CD22, TNFRSF5 (CD40), CD80, сMET, NRP1, ФНО, TNFSF12 (TWEAK), ФРГ, ИФР-1, ИФР-1,2, ИФР-2, НРФ, Те38, NogoA, RGM A, MAG, OMGr, NgR, НРФ, PGE2, ИЛ-1-β, семафорина 3А и семафорина 4. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают LINGO и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает LINGO. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой ВІВ033.

Согласно конкретному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой TNFSF12 (TWEAK). Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе связывает TNFSF12 (TWEAK) и мишень, выбранную из MTX, NKG2D, RON, pИЛ-6, ErbB3, TNFRSF21 (DR6), CD3, pИФР, DLL4, P1GF, CD20, pЭФР, HER2, CD19, CD22, TNFRSF5 (CD40), CD80, сMET, NRP1, ФНО, LINGO, ФРГ, ИФР-1, ИФР-1,2, ИФР-2, НРФ, Те38, NogoA, RGM A, MAG, OMGr, NgR, НРФ, PGE2, ИЛ-1-β, семафорина 3А и семафорина 4. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают TNFSF12 (TWEAK) и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает TNFSF12 (TWEAK). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой ВІВ023.

Согласно еще одному варианту реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой окисленный ЛПНП, gpІІВ, gpІІІа, PCSK9, фактор VІІІ, интегрин a2bB3, АОС3 или мезотелин. Согласно конкретным вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой BI-204 окисленный ЛПНП (BioInvent), абциксимаб к gpІІВ, gpІІІа (например, REOPRO, Eli Lilly), AMG-145 к PCSK9 (Amgen), TB-402 к фактору VІІІ (BioInvent), вапаликсимаб или тадоцизумаб к интегрину a2bB3 (Yamamoto Pharma). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и BI-204, абциксимаб, AMG-145, TB-402 или тадоцизумаб. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание BI-204, абциксимаба, AMG-145, TB-402, вапаликсимаба или тадоцизумаба. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела связано с ростом и/или метаболизмом костей. Согласно определенным вариантам реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой TNFSF11 (RANKL). Согласно другим вариантам реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой DKK1, остеопонтин, катепсин К, TNFRSF19L (RELT), TNFRSF19 (TROY) или склеростин (CDP-7851 UCB Celltech). Согласно другому варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой TNFSF11 (RANKL). Согласно конкретному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой деносумаб (например, AMG-162, Amgen). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и деносумаб. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание TNFSF11 (RANKL) деносумабом. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой AMG617 или AMG785 (например, CDP7851, Amgen). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и AMG617 или AMG785. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание склеростина AMG617 или AMG785. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает TNFSF11 (RANKL). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает TNFSF11 и мишень, выбранную из склеростина (SOST), эндотелина-1, DKK1, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-11, ИЛ-17А, МКСФ, ИФР-1, ИФР-2, ИФР-1,2 pИФР-1, ФНО, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8а, ФРФ-8b, ФРФ-18, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (pФРФ-1) (например, pФРФ-1-ІІІС), pФРФ-2 (например, pФРФ-2-ІІІа, pФРФ-2-ІІІb и pФРФ-2-ІІІс), pФРФ-3, ТФР-β, рецептора-2 ТФР-β, BMP2, BMP4, BMP5, BMP9, BMP10, BMPR-ІА, ТцФР, рецептора ТцФР-α, β-рецептора тромбоцитарного фактора роста (pТцФР-В), РТН, связанный с РТН белок (РТНr) и PGE2. Согласно конкретному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает TNFSF11 и DKK1. Согласно дополнительному варианту реализации ан-

титело из MRD-содержащего антитела связывает DKK1. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают TNFSF11 и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает TNFSF11. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой деносуаб, AMG617 или AMG785. Согласно дополнительным вариантам реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой бактериальный антиген, вирусный антиген, антиген микоплазмы, прионный антиген или антиген паразита (например, паразита, инфицирующего млекопитающее).

Согласно другим вариантам реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой вирусный антиген. Согласно одному варианту реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой сибирскую язву, гепатит В, бешенство, вирус Нипах, вирус Западного Нила, вирус менингита или ЦМВ. Согласно другим вариантам реализации антитело MRD-содержащего антитела конкурирует со связыванием антигена с ABTHRAX® (Human Genome Sciences), эксбивирумабом, фораивирумабом, либивирумабом, рафивирумабом, регавирумабом, севирумабом (например, MSL-109, Protovir), тивирумабом, раксибакумабом, вирусом Нипах M102.4 или MGAWN1® (MacroGenics) за связывание мишени. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно другим вариантам реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой респираторный синцитиальный вирус (PCV). Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела представляет собой мотавизумаб (например, NUMAX®, MEDI-577; MedImmune) или паливизумаб к гибриднему f-белку PCV (например, SYNAGIS®, MedImmune). Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела конкурирует с мотавизумабом или паливизумабом к гибриднему f-белку PCV за связывание мишени. Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела представляет собой фелвизумаб. Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела конкурирует с фелвизумабом за связывание мишени. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Согласно другим вариантам реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой бактериальный или грибной антиген. Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание антигена с небакумабом, эдобакомабом (например, E5), тефибазумабом (Inhibitex), панобакумабом (например, KBPA101, Kenta), пагибаксимабом (например, BSYX-A110, Biosynexus), уртоксазумабом или эфунгумабом (например, MYCOGRAB®, Novartis). Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела представляет собой небакумаб, эдобакомаб, тефибазумаб (Inhibitex), панобакумаб, пагибаксимаб, уртоксазумаб или эфунгумаб. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно еще одному конкретному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой каталитическое антитело 38C2. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и 38C2. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует 38C2.

Другие антитела, представляющие интерес, включают связывающие A33 антитела. Антиген A33 человека представляет собой трансмембранный гликопротеин суперсемейства Ig. Функция антигена A33 человека в нормальной и злокачественной ткани толстой кишки до настоящего времени неизвестна. Однако некоторые свойства антигена A33 предполагают, что он представляет собой перспективную мишень для иммунотерапии рака толстой кишки. Указанные свойства включают (i) строго ограниченный паттерн экспрессии антигена A33, (ii) экспрессию значительных количеств антигена A33 на раковых клетках толстой кишки, (iii) отсутствие секретируемого антигена или шеддинга антигена A33, (iv) тот факт, что при связывании антитела к A33 с антигеном A33, антитело к A33 интернализуется и секвестрируется в вези-

кулах, и (v) нацеливание антитела A33 на экспрессирующий антиген A33 рак толстой кишки в предварительных клинических исследованиях. Гибрид MRD, направленный на A33, с каталитическим или некаталитическим антителом, повышает терапевтическую эффективность нацеленных на A33 антител. Согласно некоторым вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе связывается с целевым белком человека. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD связывается и с белком человека, и с его ортологом у мыши, крысы, кролика или хомяка.

Антитела в мультивалентных и мультиспецифических композициях (например, MRD-содержащие антитела) способны связывать соответствующие им мишени, если домены MRD соединены с антителом. Согласно определенным вариантам реализации указанное антитело связывает мишень независимым образом. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело представляет собой агонист мишени. Согласно другим вариантам реализации указанное антитело представляет собой антагонист мишени. Согласно определенным вариантам реализации указанное антитело может применяться для локализации MRD-содержащего антитела в области, где расположена мишень антитела.

Предполагается, что антитела, используемые в настоящем изобретении, могут быть получены любым способом, известным в данной области техники. Например, молекулы антител и мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) могут быть "получены рекомбинантным способом", т.е. получены с применением технологии рекомбинантной ДНК. Моноклональные антитела, которые могут применяться в качестве антитела-компонента указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), могут быть получены с применением гибридных способов, такие как описанные у Kohler and Milstein, *Nature* 256:495 (1975). При применении гибридного способа мышь, хомяка или другое подходящее животное-хозяина иммунизируют согласно описанию выше, чтобы вызвать продуцирование лимфоцитами антител, специфически связывающихся с иммунизирующим антигеном. Лимфоциты могут также быть иммунизированы *in vitro*. После иммунизации лимфоциты выделяют и соединяют с подходящей миеломной клеточной линией с применением, например, полиэтиленгликоля, с получением клеток гибридомы, которые затем могут быть отделены от неслитых лимфоцитов и клеток миеломы. Гибридомы, продуцирующие моноклональные специфические антитела, направленные против выбранного антигена согласно оценке с помощью иммунопреципитации, иммуноблоттинга или с применением анализа связывания *in vitro* (например, радиоиммунологического анализа (RIA); иммуноферментного твердофазного анализа (ELISA)), могут быть затем размножены либо *in vitro*, например, с применением известных способов (см., например, Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press, 1986) или *in vivo*, например, в асцитных опухолях у животного. Затем моноклональные антитела могут быть очищены из культуральной среды или асцитной жидкости согласно приведенному выше описанию для поликлональных антител.

Как вариант, моноклональные антитела могут также быть получены с применением методов рекомбинантной ДНК, например, согласно описанию в патенте США № 4816567. Например, согласно одному подходу полинуклеотиды, кодирующие моноклональное антитело, выделяют из зрелых В-клеток или клетки гибридомы, например, с помощью ОТ-ПЦР с использованием олигонуклеотидных праймеров, специфически амплифицирующих гены, кодирующие тяжелые и легкие цепи указанного антитела, и определяют их последовательность с применением стандартных процедур. Выделенные полинуклеотиды, кодирующие тяжелые и легкие цепи, затем клонируют в подходящие экспрессионные векторы, при трансфекции которыми клеток-хозяев, таких как клетки *E. coli*, клеток обезьян COS, клеток яичника китайского хомячка (CHO) или клеток миеломы, не продуцирующих в иных условиях иммуноглобулиновый белок, указанные клетки-хозяева продуцируют моноклональные антитела. При других подходах рекомбинантные моноклональные антитела или фрагменты антител, обладающие требуемой иммунореактивностью, могут быть выделены из библиотек с фаговым дисплеем, экспрессирующих области CDR нужного типа, с применением техники, известной в данной области техники (McCafferty et al., *Nature* 348:552-554 (1990); Clackson et al., *Nature* 352:624-628 (1991); и Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1991)). Полинуклеотид(ы), кодирующий(ие) моноклональное антитело, может(гут) быть дополнительно модифицированы различными способами с применением технологии рекомбинантной ДНК для получения альтернативных вариантов антител. Например, полинуклеотидные последовательности, кодирующие один или большее количество доменов MRD и в некоторых случаях линкеры, могут быть функционально связаны, например, с 5'- или 3'-концом последовательности, кодирующей последовательности моноклонального антитела. Согласно некоторым вариантам реализации константные домены легких и тяжелых цепей, например, моноклонального антитела мыши, могут быть заменены (1) на соответствующие области, например, антитела человека для получения гибридного антитела, или (2) на неиммуноглобулиновый полипептид для получения гибридного антитела. Техники направленного мутагенеза и мутагенеза высокой плотности варибельной области известны в данной области техники и могут применяться для оптимизации специфичности, аффинности и т.п. моноклонального антитела.

Согласно определенным вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела представляет собой антитело человека. Например, антитела человека могут быть прямо получены с применением различных техник, известных в данной области техники. Могут быть получены иммортализованные В-лимфоциты человека, иммунизированные *in vitro* или выделенные из иммунизированного индивидуума,

продуцирующие антитело, направленное против целевого антигена (См., например, Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boemer et al., *J. Immunol.* 147 (1):86-95 (1991); и патенты США №№ 5750373 и 6787637). Согласно одному варианту реализации указанное антитело человека может быть получено "методом минилокусов", при котором локус экзогенного иммуноглобулина имитируют путем включения индивидуальных генов локуса иммуноглобулина (см., например, патент США № 5545807). Способы получения антитела человека из фаговой библиотеки и, необязательно, оптимизации сродства к связыванию известны в данной области техники и описаны, например, у Vaughan et al., *Nat. Biotech.* 14:309-314 (1996); Sheets et al., *Proc. Nat'l. Acad. Sci.* 95:6157-6162 (1998); Hoogenboom et al., *Nat. Biotechnology* 23:1105-1116 (2005); Hoogenboom et al., *J. Mol. Biol.* 227:381 (1991); Persic et al., *Gene* 187:9-18 (1997); Jostock et al., *J. Immunol. Methods* 289:65-80 (2004); Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991)); et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:7978-7982 (1991); et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813 (1994); Yang et al., *J. Mol. Biol.* 254:392-403 (1995); и Barbas et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:4457-4461 (1992). Техники получения и применения фаговых библиотек антител также описаны в патентах США №№ 5545807, 5969108, 6172197, 5885793, 6521404, 6544731, 6555313, 6582915, 6593081, 6300064, 6653068, 6706484 и 7264963; и у Rothe et al., *J. Mol. Bio.* 130:448-54 (2007) (каждый из указанных источников полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Стратегии аффинного созревания и стратегии шаффлинга цепей (Marks et al., *Bio/Technology* 10:779-783 10:779-783 (1992) (источник полностью включен в настоящий документ посредством ссылки) известны в данной области техники и могут применяться для получения высокоаффинных антител человека. Антитела могут также быть получены у мышей, трансгенных по генам иммуноглобулинов человека или фрагментам указанных генов и способных, при иммунизации, продуцировать широкий репертуар антител человека при отсутствии продуцирования эндогенных иммуноглобулинов. Указанный подход описан в источниках: Lonberg, *Nat. Biotechnol* 23:1117-1125 (2005), Green et al., *Nature Genet.* 7:13-21 (1994), и Lonberg et al., *Nature* 368:856-859 (1994); патенты США №№ 5545807, 5545806, 5569825, 5625126, 5633425, 5661016, 6596541, 7105348 и 7368334 (каждый из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки).

IV. Линкеры.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению могут содержать один линкер, несколько линкеров или не содержать линкеров. Соответственно, MRD может быть функционально соединен (связан) с антителом прямо или функционально присоединен через необязательный линкерный пептид. Аналогичным образом MRD может быть функционально присоединен к одному или большему количеству MRD прямо или функционально присоединен к одному или большему количеству MRD через один или большее количество необязательных линкерных пептидов. Линкеры могут иметь любые размер или состав при условии, что они способны функционально соединять MRD и антитело таким образом, чтобы указанный MRD позволял MRD-содержащему антителу связывать мишень MRD. Согласно некоторым вариантам реализации размер линкеров составляет приблизительно от 1 до 20 аминокислот, приблизительно от 1 до 15 аминокислот, приблизительно от 1 до 10 аминокислот, приблизительно от 1 до 5 аминокислот, приблизительно от 2 до 20 аминокислот, приблизительно от 2 до 15 аминокислот, приблизительно от 2 до 10 аминокислот или приблизительно от 2 до 5 аминокислот. Линкер может также содержать приблизительно от 4 до 15 аминокислот. Согласно определенным вариантам реализации указанный линкерный пептид включает короткий линкерный пептид с последовательностью GGGS (SEQ ID NO: 1), линкерный пептид средней длины с последовательностью SSGGGSGGGGGSS (SEQ ID NO: 2) или длинный линкерный пептид с последовательностью SSGGGG SGGGGGGSSRSS (SEQ ID NO: 19). Согласно еще одному варианту реализации MRD встроен в четвертую петлю константной области легкой цепи. Например, указанный MRD может быть встроен между выделенными подчеркиванием символами в следующей последовательности аминокислот:

RTVAAPSVFIFP

PSDEQLKSGTASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDKLGTSQESVTEQDSKDSTYSL

SS TLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSLPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:102).

Указанный линкер может также представлять собой непептидный линкер, такой как алкильный линкер или ПЭГ-линкер. Например, могут применяться алкильные линкеры, такие как -NH-(CH₂)_s-C(O)-, где s=2-20. Указанные алкильные линкеры могут дополнительно быть замещены любой не ограниченной стерически группой, такой как низший алкил (например, C₁-C₆), низший ацил, галоген (например, Cl, Br), CN, NH₂, фенил и т.д. Примером непептидного линкера является ПЭГ-линкер. Согласно определенным вариантам реализации указанный ПЭГ-линкер имеет молекулярную массу, составляющую приблизительно от 100 до 5000 кДа или приблизительно от 100 до 500 кДа.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный линкер представляет собой "расщепляемый линкер", способствующий высвобождению MRD или цитотоксического агента в клетке. Например, может применяться кислотолабильный линкер (например, гидразон), чувствительный к протеазе (например, чувствительный к пептидазе) линкер, фотолабильный линкер, диметильный линкер или дисульфид-

содержащий линкер (Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992); патент США № 5208020; опубл. заявка на патент США № 20090110753), если требуется, чтобы ковалентная связь между MRD или цитотоксическим агентом и мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащим антителом) расщеплялась внутриклеточно, когда указанная композиция интернализуется клеткой. Термины "внутриклеточно расщепляемый" и "внутриклеточное расщепление" относятся к метаболическому процессу или реакции внутри клетки на конъюгате антитела с лекарственным средством (ADC), в ходе которого разрушается ковалентная связь, т.е. связь посредством линкера, между MRD и цитотоксическим агентом, MRD и антителом, антителом и цитотоксическим агентом или между двумя доменами MRD, что приводит к отсоединению свободного MRD и/или цитотоксического агента от антитела внутри клетки. Отщепленные фрагменты ADC с антителом Zybodo, соответственно, представляют собой внутриклеточные метаболиты.

Оптимизация линкера может оцениваться с применением техник, описанных в примерах 1-18 и техник, известных из других источников в данной области техники. Линкеры предпочтительно не нарушают способность домена MRD и/или антитела связывать целевые молекулы.

V. Антитела, содержащие домены MRD.

При применении способов, описанных в настоящем документе, мультиспецифичность и большая мультивалентность может быть достигнута путем соединения доменов MRD с антителами.

Домены MRD указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), полученные в соответствии с настоящим изобретением, могут быть функционально связаны с антителом через N-конец или C-конец пептида. Указанные MRD могут быть функционально связаны с антителом на C-конце тяжелой цепи антитела, N-конце тяжелой цепи антитела, C-конце легкой цепи антитела или N-конце легкой цепи антитела. Оптимизация состава MRD, локализации связи MRD-антитело и состава линкера может быть выполнена с применением анализов связывания, описанных в примерах 1-18, и биологических анализов и других известных в данной области техники анализов подходящей связанной с мишенью биологической активности.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело представляет собой MRD-содержащее антитело, описанное в заявке на патент США № 61/489249, поданной 24 мая 2011 г., которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно одному варианту реализации мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) содержат MRD, функционально связанные с тяжелой цепью антитела, легкой цепью антитела или и тяжелой, и легкой цепями. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один MRD, соединенный с одним из концов цепи антитела. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере один MRD, функционально связанный с двумя концами цепей антитела. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один MRD, функционально связанный с тремя концами цепей антитела. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один MRD, функционально связанный с каждым из четырех концов цепей антитела (т.е. с N- и C-концами легкой цепи и с N- и C-концами тяжелой цепи).

Согласно некоторым конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один MRD, функционально связанный с N-концом легкой цепи. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один MRD, функционально связанный с N-концом тяжелой цепи. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один MRD, функционально связанный с C-концом легкой цепи. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один MRD, функционально связанный с C-концом тяжелой цепи.

MRD-содержащее антитело может быть "мультиспецифическим" (например, биспецифическим, триспецифическим, тетраспецифическим, пентаспецифическим или обладать большей мультиспецифичностью), т.е. оно распознает и связывается с двумя или большим количеством разных эпитопов, присутствующих на одном или большем количестве разных антигенов (например, белков). Соответственно, то, является ли MRD-содержащее антитело "моноспецифическим" или "мультиспецифическим" (например, биспецифическим, триспецифическим и тетраспецифическим), относится к числу разных эпитопов, с которым связывается указанное MRD-содержащее антитело. Мультиспецифические антитела могут быть специфическими в отношении разных эпитопов целевого полипептида (например, согласно описанию в настоящем документе) или могут быть специфическими в отношении целевого полипептида, а также гетерологичного эпитопа, такого как гетерологичный целевой полипептид или материал твердой подложки. Настоящее изобретение предусматривает получение моно-, би-, три-, тетра- и пентаспецифических антител, а также антител, обладающих большей мультиспецифичностью. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает два разных эпитопа. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает два разных эпитопа одновременно. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает

Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит два разных домена MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит три разных домена MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит четыре разных домена MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит пять разных доменов MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит шесть разных доменов MRD. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит от двух до десяти разных доменов MRD.

Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере два разных домена MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере три разных домена MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере четыре разных домена MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере пять разных доменов MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере шесть разных доменов MRD.

Соответственно, мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) могут быть мономерными по MRD (т.е. содержать один MRD на конце пептидной цепи, в некоторых случаях присоединенный посредством линкера) или мультимерными по MRD (т.е. содержать более одного MRD, при этом MRD, необязательно, последовательно присоединены посредством линкера). Указанные мультимерный мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) могут быть гомомультимерными (т.е. содержать более одного идентичного MRD, необязательно, последовательно соединенные линкером(ами) (например, гомодимеры, гомотримеры, гомотетрамеры и т.д.)) или гетеромультимерными (т.е. содержат два или большее количество доменов MRD, включающих по меньшей мере два разных домена MRD, необязательно, соединенные посредством линкера(ов), при этом все или некоторые домены MRD, соединенные с конкретным концом, отличаются (например, гетеродимер, гетеротример, гетеротетрамер и т.д.)). Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит два разных мономерных домена MRD, расположенных на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит три разных мономерных домена MRD, расположенных на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит четыре разных мономерных доменов MRD, расположенных на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит пять разных мономерных доменов MRD, расположенных на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит шесть

разных мономерных доменов MRD, расположенных на разных концах иммуноглобулина.

Согласно альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере один димерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере один гомодимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере один гетеродимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина.

Согласно альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере один мультимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере один гомомультимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере один гетеромультимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина.

Согласно альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит домены MRD, функционально связанные по меньшей мере с двумя разными концами иммуноглобулина. Согласно конкретному варианту реализации указанные домены MRD, соединенные по меньшей мере с одним из иммуноглобулинов, представляют собой мультимер. Согласно одному варианту реализации указанные домены MRD, соединенные по меньшей мере с одним из иммуноглобулинов, представляют собой гомомультимер (т.е. более одного одинакового MRD последовательно функционально связаны, необязательно, соединяясь посредством линкера). Согласно еще одному варианту реализации указанные домены MRD, соединенные по меньшей мере с одним из иммуноглобулинов, представляют собой гетеромультимер (т.е. два или большее количество разных доменов MRD функционально связаны последовательно, необязательно, соединяясь посредством линкера). Согласно дополнительному варианту реализации указанные домены MRD, соединенные по меньшей мере с одним из иммуноглобулинов, представляют собой димер. Согласно еще одному варианту реализации указанные домены MRD, соединенные по меньшей мере с одним из иммуноглобулинов, представляют собой гомодимер. Согласно еще одному варианту реализации указанные домены MRD, соединенные по меньшей мере с одним из иммуноглобулинов, представляют собой гетеродимер.

Указанные несколько MRD могут быть нацелены на один и тот же сайт связывания мишени или на два или большее количество разных сайтов связывания мишени. Если домены MRD связываются с разными сайтами связывания мишени, указанные сайты связывания могут располагаться на одной и той же или на разных целевых молекулах.

Аналогичным образом, антитело и MRD в мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащем антителе) может связываться с одной и той же целевой молекулой или с разными целевыми молекулами.

Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один MRD и антитело в мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащем антителе) могут связываться со своими мишенями одновременно. Согласно одному варианту реализации каждый MRD в мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащем антителе) и антитело могут связываться со своей мишенью одновременно. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или большее количество мишеней одновременно.

Способность мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащее антитело) связываться с множеством мишеней одновременно может быть проанализирована с применением способов, известных в данной области техники, включая, например, способы, описанные в приведенных ниже примерах.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции, обладающие моновалентной специфичностью.

Согласно дополнительным вариантам реализации мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению содержат единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывают мишень).

Согласно некоторым вариантам реализации антигенсвязывающие домены антитела-компонента

мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, предложенной в настоящем изобретении, связываются с разными целевыми эпитопами (т.е. указанное антитело является биспецифическим). Предполагается, что термин "биспецифические антитела" включает любое антитело, обладающее двумя разными видами связывающей специфичности, т.е. указанное антитело связывает два разных эпитопа, которые могут быть расположены на одном целевом антигене, или, чаще, на разных целевых антигенах. Способы получения биспецифических антител известны в данной области техники. (См., например, Millstein et al., *Nature*, 305:537-539 (1983); Traunecker et al., *EMBO J.* 10:3655-3659 (1991); Suresh et al., *Methods in Enzymology* 121:210 (1986); Kostelny et al., *J. Immunol.* 148(5): 1547-1553 (1992); Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993); Gruber et al., *J. Immunol.* 152:5368 (1994); Tutt et al., *J. Immunol.* 147:60-69 (1991); патенты США №№ 4474893, 4676980, 4714681, 4925648, 5573920, 5601819, 5731168, 5807706 и 5821333; опубликованные международные заявки №№ WO 94/04690, WO 91/00360, WO 92/05793, WO 92/08802, WO 92/200373, WO 93/17715, WO 00/44788 и WO 02/096948; EP 1870459A1 и EP 03089, содержание каждой из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки).

Один способ получения биспецифических антител был назван стратегией "выступы-во-впадины" (см., например, межд. публ. WO 2006/028936). Ошибочное спаривание тяжелых цепей Ig при применении указанной технологии снижается за счет мутирования выбранных аминокислот, образующих поверхность CH3-доменов IgG. В положениях в пределах CH3-домена, где происходит прямое взаимодействие двух тяжелых цепей, в последовательность одной тяжелой цепи вводят аминокислоту с небольшой боковой цепью ("впадина"), а в положение, соответствующее взаимодействующему остатку на другой тяжелой цепи вводят аминокислоту с большой боковой цепью ("выступ"). Согласно некоторым вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат цепи иммуноглобулина, CH3-домены которых были модифицированы путем мутирования выбранных аминокислот, взаимодействующие в области поверхности между двумя полипептидами таким образом, что преимущественно образуется биспецифическое антитело. Указанные биспецифические антитела могут состоять из цепей иммуноглобулина одного подкласса (например, IgG1 или IgG3) или разных подклассов (например, IgG1 и IgG3 или IgG3 и IgG4).

Согласно одному варианту реализации биспецифическое антитело-компонент мультиспецифической и мультивалентной композиции (например, MRD-содержащего антитела) содержит мутацию T366W в "цепи с выступами" и мутации T366S, L368A, Y407V в "цепи с впадинами", и, необязательно, дополнительный межцепочечный дисульфидный мостик между CH3-доменами, например, за счет введения мутации Y349C в "цепь с выступами" и мутации E356C или мутации S354C в "цепи с впадинами"; мутаций R409D, K370E в "цепь с выступами" и мутаций D399K, E357K в "цепь с впадинами"; мутаций R409D, K370E в "цепь с выступами" и мутаций D399K, E357K в "цепь с впадинами"; мутации T366W в "цепь с выступами" и мутаций T366S, L368A, Y407V в "цепь с впадинами"; мутаций R409D, K370E в "цепь с выступами" и мутаций D399K, E357K в "цепь с впадинами"; мутаций Y349C, T366W в одну из цепей и мутаций E356C, T366S, L368A, Y407V в ответную цепь; мутаций Y349C, T366W в одну цепь и мутаций S354C, T366S, L368A, Y407V в ответную цепь; мутаций Y349C, T366W в одну цепь и мутаций S354C, T366S, L368A, Y407V в ответную цепь (нумерация в соответствии с индексом EU по Kabat).

Согласно некоторым вариантам реализации биспецифическое антитело-компонент композиции, предложенной в настоящем изобретении (например, MRD-содержащее антитело), представляет собой IgG4-антитело или модифицированное IgG4-антитело или содержит тяжелую цепь IgG4 или модифицированную тяжелую цепь IgG4. IgG4-антитела представляют собой динамические молекулы, в которых происходит обмен Fab-фрагментами посредством перестановки местами тяжелой цепи IgG4 и присоединенной легкой цепи с парой тяжелая цепь/легкая цепь другой молекулы IgG4 соответственно, что приводит к образованию биспецифических антител. Соответственно, обмен Fab-фрагментами посредством перестановки в MRD-содержащих IgG4-антителах, запущенный *in vivo* или *in vitro* в физиологических условиях, приводит к образованию композиций с биспецифическим антителом. Согласно конкретным вариантам реализации тяжелая цепь IgG4 в композиции, предложенной в настоящем изобретении, содержит замену S228P. Было показано, что указанная замена значительно ингибирует обмен Fab-фрагментами в полученных мутантных антителах IgG4 и, таким образом, снижает вероятность обмена Fab-фрагментами между рекомбинантным антителом и эндогенным IgG4. (См., например, Labrijn et al., *Nat. Biotechnol.* 27(8):767-71 (2009)). Согласно дополнительным вариантам реализации тяжелая цепь IgG4 композиции, предложенной в настоящем изобретении, содержит замену Arg в положении 409 (например, на Lys, Ala, Thr, Met или Leu), Phe в положении 405 (например, на Lys, Ala, Thr, Met или Leu) или Lys в положении 370. Согласно другим вариантам реализации область CH3 тяжелой цепи IgG4 композиции, предложенной в настоящем изобретении, заменяли на область CH3 IgG1, IgG2 или IgG3. Согласно дополнительным вариантам реализации взаимодействия между одним или большим количеством доменов MRD, расположенных на С-концах отдельных тяжелых цепей (например, IgG4 или IgG4 и IgG3), благоприятствуют и/или стабилизируют гетеродимеры между тяжелыми цепями, или иным образом уменьшают обмен Fab-фрагментами в гетеродимере.

Примеры биспецифических антител-компонентов мультивалентных и мультиспецифических композиций, предложенных в настоящем изобретении, включают гетеродимеры цепей IgG4 и IgG1, IgG4 и IgG2, IgG4 и IgG2, IgG4 и IgG3, IgG1 и IgG3. Такие антитела с гетеродимерными тяжелыми цепями могут рутинным образом быть сконструированы, например, путем модификации выбранных аминокислот, образующих поверхность CH3-доменов IgG4 и IgG1 или IgG3 человека, таким образом, чтобы способствовать образованию гетеродимерной тяжелой цепи. Согласно дополнительным вариантам реализации взаимодействие между одним или несколькими доменами MRD, расположенными на С-концах гетеродимерных тяжелых цепей, благоприятствует образованию или структуре или стабилизирует образование или структуру гетеромультимеров соответственно.

Известно, что IgG4-антитела обладают пониженной АЗКЦ-активностью и периодом полувыведения по сравнению с иммуноглобулинами других подклассов, например IgG1 и IgG3. Соответственно, форматы на основе подкласса IgG4 представляют собой привлекательный формат для разработки терапевтических средств, которые связывают и блокируют клеточные рецепторы, но не истощают целевые клетки. Как вариант, в вариантах реализации, для которых требуется повышенная эффекторная активность, тяжелая цепь IgG4 композиции, предложенной в настоящем изобретении, может быть модифицирована согласно описанию в настоящем документе или известным в данной области техники способом так, чтобы усилить эффекторную функцию (например, модификацией остатков в положениях 327, 330 и 331; нумерация в соответствии с индексом EU по Kabat). Аналогичным образом, если требуется увеличенный период полувыведения, тяжелая цепь IgG4 композиции, предложенной в настоящем изобретении, может быть сконструирована согласно описанию в настоящем документе или известным в данной области техники способом так, чтобы более селективно связывать FcRn при pH 6,0, но не при pH 7,4, например, путем введения мутаций на поверхности между доменами CH2 и CH3, например, замен T250Q/M428L, а также M252Y/S254T/T256E и H433K/N434F (нумерация в соответствии с индексом EU по Kabat).

Как было показано в примерах выше, предполагается, что, согласно некоторым вариантам реализации, мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению содержат единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывают мишень). Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания (т.е. моновалентный сайт связывания) представляет собой антигенсвязывающий домен антитела. Согласно другим вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой MRD. Соответственно, мультивалентные и мультиспецифические композиции, предложенные в настоящем изобретении, включают (и могут быть рутинным образом сконструированы так, чтобы включать) MRD-содержащие антитела, которые содержат 1, 2, 3, 4 или большее количество единственных сайтов связывания мишени. Указанный(ые) единственный(ые) сайт(ы) связывания может(гут) обеспечиваться одним или большим количеством доменов MRD, расположенных на одном или более из 4 концов тяжелых цепей иммуноглобулина или 4 концов легких цепей иммуноглобулина. Кроме того, единственный сайт связывания может обеспечиваться одним из антигенсвязывающих доменов указанного антитела (при этом MRD MRD-содержащего антитела связывает тот же целевой эпитоп другого антигенсвязывающего домена указанного антитела. Более того, согласно конкретному варианту реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, включают (и могут быть рутинным образом сконструированы так, чтобы включать) MRD-содержащие антитела, которые содержат 1, 2, 3, 4 или большее количество единственных сайтов связывания мишени и не связывают бивалентно другую мишень.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащие антитела) содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывает мишень) на клеточной поверхности, образующей мультимеры (например, гомомеры или гетеромеры). Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания связывает мишень на клеточной поверхности, требующую мультимеризации для сигнализации. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит единственный сайт связывания, который связывает мишень на клеточной поверхности и ингибирует связывание другой молекулы (такой как лиганд) с мишенью на клеточной поверхности. Согласно другим вариантам реализации связывание единственного сайта связывания ингибирует мультимеризацию мишени (например, гомомерную и гетеромерную мультимеризацию). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция содержит единственные сайты связывания других мишеней (т.е. моновалентно связывает более чем одну другую мишень). Согласно некоторым вариантам реализации указанный несколько единственных сайтов связывания композиции связывают мишени на одной и той же клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные несколько единственных сайтов связывания композиции связывают мишени на разных клетках. В данной области техники известны многочисленные рецепторы, требующие мультимеризацию для изменения их нормальной функции. Такие рецепторы предположительно являются мишенями единственных сайтов связывания в мультивалентных и мультиспецифических композициях (например, MRD-содержащих антителах) согласно настоящему изобретению. Согласно некоторым вариантам реализации указанная композиция содержит единствен-

ный сайт связывания рецепторной тирозинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанная композиция содержит единственный сайт связывания рецептора фактора роста. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция содержит единственный сайт связывания рецептора, связанного с G-белком. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция содержит единственный сайт связывания рецептора хемокина. Согласно другим вариантам реализации указанная композиция содержит единственный сайт связывания представителя суперсемейства рецепторов ФНО. Согласно конкретным вариантам реализации указанная композиция содержит единственный сайт связывания рецептора, выбранного из рецептора конечных продуктов гликозилирования (RAGE), c-Met, ErbB2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, рТцФР-А, рТцФР-В, нетрина, CD28, TNFRSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFRSF1B (TNFR2), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFRSF 6 (Fas, CD95), TNFRSF21 или TNFRSF25, TNFRSF 7 (CD27), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFRSF 8 (CD30), TNFSF11 (RANKL), TNFRSF 11A (RANK), TNFRSF21 (DR6), TNFRSF25 (DR3) и LRP6.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывает мишень) на клеточной поверхности, образующей мультимер, и содержит несколько сайтов связывания двух или большего количества других мишеней (т.е. мультивалентно связывает мишени). Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени на клеточной поверхности и несколько сайтов связывания 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней. Согласно дополнительным вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, расположены на поверхности клетки. Согласно другим вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляют собой растворимые мишени (например, хемокины, цитокины и факторы роста). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мишени, связываемые указанной композицией, представляют собой опухолевые антигены (включая опухолевые антигены и опухолеассоциированные антигены). Согласно дополнительным вариантам реализации мишень, связываемая указанной композицией, связана с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации мишень, связываемая указанной композицией, связана с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом), сердечно-сосудистой системы, нервной системы или с инфекционным заболеванием.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело содержит единственный сайт связывания TNFRSF21 (DR6). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит единственный сайт связывания DR6 и связывает мишень, выбранную из AGE (S100 A, амфотерин), ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-18, ИЛ-12, ИЛ-23, TNFSF12 (TWEAK), ФНО- α , ФРЭС, TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), интерферон- γ , ГМКФ, ФРФ, CXCL13, MCP 1, CCR2, NogoA, RGM A, OMGr MAG, CPSG, LINGO, α -синуклеина, семафорина (например, семафорина 3A, семафорина 4), эфрина, VLA4, CD45, RB, C5, CD52 и CD200. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают DR6 и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Указанные композиции находят применение в лечении заболеваний и расстройств, включающих неврологические заболевания и расстройства, такие как рассеянный склероз и другие нейродегенеративные заболевания. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает DR6.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело содержит единственный сайт связывания TNFRSF25 (DR3). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит единственный сайт связывания DR3 и связывает мишень, выбранную из ФНО, ИФН- α , ИФН- γ , ИЛ-1, ИЛ-1- β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23 и ИЛ-32. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают DR3 и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Указанные композиции находят применение в лечении заболеваний и расстройств, включая воспалительное заболевание кишечника и аутоиммунные заболевания, такие как ревматоидный артрит. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает DR3.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащие антитела) содержит несколько сайтов связывания мишени (т.е. мультивалентно связывает мишень) на клеточной поверхности, образующих мультимеры (например, гомомеры или гетеромеры). Согласно некоторым вариантам реализации указан-

ные несколько сайтов связывания связывают мишень на клеточной поверхности, требующей мультимеризации для сигнализации. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит несколько сайтов связывания мишени на клеточной поверхности. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание нескольких сайтов связывания приводит к мультимеризации мишени (например, гомомерной и гетеромерной мультимеризации). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция содержит несколько сайтов связывания других мишеней (т.е. мультивалентно связывает более чем одну другую мишень). Согласно некоторым вариантам реализации несколько единственных сайтов связывания композиции связывают мишени на одной и той же клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации несколько единственных сайтов связывания композиции связывают мишени на разных клетках. В данной области техники известны многочисленные рецепторы, требующие мультимеризации для изменения их нормальной функции. Такие рецепторы предположительно являются мишенями указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител). Согласно некоторым вариантам реализации указанная композиция содержит несколько сайтов связывания рецепторной тирозинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанная композиция содержит несколько сайтов связывания рецептора фактора роста. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция содержит несколько сайтов связывания рецептора, связанного с G-белком. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция содержит несколько сайтов связывания рецептора хемокина. Согласно другим вариантам реализации указанная композиция содержит несколько сайтов связывания представителя суперсемейства рецепторов ФНО.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает TNFRSF10A (DR4). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает DR4 и мишень, выбранную из ErbB2, рЭФР, рИФР-1, TNFRSF10b (DR5), CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, TNFRSF5 (CD40), TNFRSF9 (41BB), ИЛ-6 и ИФР-1,2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают DR4 и также связывают по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Указанные композиции находят применение в лечении заболеваний и расстройств, включающих такие раковые заболевания, как рак молочной железы, рак толстой и прямой кишки, рак головы и шеи, В-клеточные лимфомы, лейкоз ворсистых клеток, хронический В-клеточный лимфолейкоз и меланомы. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает DR4. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой CS1008 или мапатумумаб.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает TNFRSF10B (DR5). Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает DR5 и мишень, выбранную из ErbB2, рЭФР, рИФР-1, TNFRSF10A (DR4), CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD138, синдекана, CD39, TNFRSF5 (CD40), TNFRSF 9 (41BB), ИЛ-6 и ИФР-1,2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают DR5 и также связывают по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Указанные композиции находят применение при лечении заболеваний и расстройств, в том числе раковых заболеваний, таких как рак молочной железы, рак толстой и прямой кишки, рак головы и шеи, В-клеточных лимфом, лейкоза ворсистых клеток, хронического В-клеточного лимфолейкоза и меланомы. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает DR5. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой LBY135, AMG66, апомаб, PRO95780, лексатумумаб, конатумумаб или тигатумумаб.

Композиции, перенаправляющие функцию эффекторных клеток.

Настоящее изобретение также охватывает такие мультивалентные и мультиспецифические композиции, как мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), способные сближать эффекторные клетки хозяина с клетками, которые требуется устранить (например, иммунными клетками, раковыми клетками, пораженными заболеванием клетками, инфекционными агентами и клетками, инфицированными инфекционными агентами). Мультивалентные и мультиспецифические функциональные группы предложенных в настоящем изобретении композиций, в частности, хорошо подходят для перенаправления иммунного ответа у хозяина и обеспечивают многочисленные преимущества по сравнению с альтернативными разрабатываемыми платформами на основе мультиспецифических композиций. Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает (1) мишень на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес (например, иммунная клетка или опухолевый антиген на опухолевой клетке) и (2) мишень на эффекторной клетке, с тем, чтобы направлять иммунный ответ на клетку, ткань или инфекционный агент, представляющий(ую) интерес. Мишень(и), с которой(ыми) связывается указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция, може(гу)т быть мономерной(ыми) или мультимерной(ыми). Кроме того, мультимерная

мишень, с которой связывается мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция, может быть гомомультимерной или гетеромультимерной. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 2, 3, 4 или 5 мишеней на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес. Согласно дополнительным вариантам реализации одна или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляет(ют) собой опухолевый антиген (например, опухолевые антигены и опухолеассоциированные/ассоциированные с раком антигены). Указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции также находят применение в лечении заболеваний и расстройств, включая, но не ограничиваясь перечисленными, заболевания иммунной системы, скелетной системы, сердечно-сосудистой системы и нервной системы, а также инфекционное заболевание. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы (например, заболеванием или расстройством иммунной системы, описанным в настоящем документе, таком как воспаление или аутоиммунное заболевание (например, ревматоидный артрит)). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом или другим заболеванием или расстройством скелетной системы, описанным в настоящем документе). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством сердечно-сосудистой системы (например, заболеванием или расстройством сердечно-сосудистой системы, описанным в настоящем документе). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством нервной системы (например, заболеванием или расстройством нервной системы, описанным в настоящем документе). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с инфекционным агентом или заболеванием (например, инфекционным заболеванием или агентом, описанным в настоящем документе).

Эффекторные клетки, которые может связывать мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) согласно настоящему изобретению, включают, не ограничиваясь перечисленными, Т-клетки, моноциты/макрофаги и естественные клетки киллеры.

Согласно одному варианту реализации мишень на клетке, на которую мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) направляет иммунный ответ, представляет собой опухолевый антиген. Мультивалентные и мультиспецифические композиции, предложенные в настоящем изобретении (например, MRD-содержащие антитела), предположительно способны связывать опухоль и опухолевый антиген практически любого типа. Примеры типов опухолей, на которые может обеспечиваться нацеливание, включают, не ограничиваясь перечисленными, одно или большее количество раковых заболеваний, выбранных из группы рака толстой и прямой кишки, рака пищевода, рака желудка, рака головы и шеи, рака щитовидной железы, множественной миеломы, рака почки, рака поджелудочной железы, рака легкого, рака желчных протоков, глиомы, меланомы, рака печени, рака предстательной железы и рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака яичника, рака шейки матки и рака эндометрия. Примеры типов опухолей, на которые может обеспечиваться нацеливание, включают гематологические раковые заболевания. Гематологические раковые заболевания, которые могут быть мишенями, включают, не ограничиваясь перечисленными, одно или большее количество раковых заболеваний, выбранных из группы: лимфомы Ходжкина, медуллярной неходжкинской лимфомы, острого лимфобластного лейкоза, лимфоцитарного лейкоза и хронического миелогенного лейкоза, острого миелогенного лейкоза.

Примеры опухолевых антигенов включают ErbB1, ErbB2, ErbB3, pФРЭС-1, рецептор ФРЭС-2, pЭФР-вариант III, CD16, CD19, CD20, онкостатин М, ПСА, PCMA, интегрин avb6, ADAM9, CD22, CD23, CD25, CD28, CD36, CD45, CD46, CD56, CD79a/CD79b, CD103, JAM-3, gp100, ALCAM, PIPA, A33, карбоксипептидазу М, Е-кадгерин, CA125, CDK4, P9A, CTLA-4, RAAG10, рецептор трансферрина, p-15, GD2, MUM-1, MAGE-1, MAGE-3, KSA, MOC31, MIC-1, EphA2, GAGE-1, GAGE-2, MART, KID31, CD44v3, CD44v6 и ROR1. Дополнительные примеры опухолевых антигенов описаны в настоящем документе и/или известны в данной области техники.

Согласно одному варианту реализации мишень на клетке, на которую мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) направляет иммунный ответ, представляет собой иммунную клетку или воспалительную клетку.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение включает мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию, которая связывает опухолевый антиген, экспресси-

руемый не собственно на опухолевых клетках, а на окружающих реактивных и поддерживающих опухоль незлокачественных клетках, включая опухолевую строму (т.е. опухолеассоциированные антигены). Опухолевая строма содержит эндотелиальные клетки, формирующие новые кровеносные сосуды, и стромальные фибробласты, окружающие сосудистую сеть опухоли. Согласно одному варианту реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает опухолеассоциированный антиген на эндотелиальной клетке. Согласно дополнительному варианту реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает опухолевый антиген и также связывает опухолеассоциированный антиген на фибробласте. Согласно дополнительному варианту реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает опухолевый антиген и также связывает белок активации фибробластов (FAP).

Инфекционные агенты, на которые мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антителио) может направлять иммунный ответ, включают, не ограничиваясь перечисленными, прокариотические и эукариотические клетки, вирусы (в том числе бактериофаги), инородные объекты (например, токсины) и инфекционные организмы, такие как грибы и паразиты (например, паразиты млекопитающих), согласно описанию в настоящем документе, и инфекционные агенты, связанные с инфекционными заболеваниями, описанными в настоящем документе. Предполагается также, что термин "инфекционные агенты" охватывает другие прокариотические и эукариотические клетки, вирусы (в том числе бактериофаги), инородные объекты (например, токсины), и инфекционные организмы, такие как грибы и паразиты, известные из других источников в данной области техники.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антителио) связывает (1) мишень на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке) и (2) содержит единственный сайт связывания мишени на эффекторной клетке, с тем, чтобы направлять иммунный ответ на клетку, ткань или инфекционный агент, представляющий(ую) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой MRD. Согласно другим вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой антигенсвязывающий домен антителиа. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции не возбуждает сигнал при связывании указанной композицией мишени на эффекторной клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 2, 3, 4 или 5 мишеней на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции расположены на поверхности клетки. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляют собой опухолевый антиген (например, опухолевые антигены и опухолеассоциированные/ассоциированные с раком антигены). Согласно дополнительным вариантам реализации одна или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации одна или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопороз), сердечно-сосудистой системы, нервной системы, или с инфекционным заболеванием.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антителио) связывает (1) мишень на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке) и (2) мишень на лейкоците, с тем, чтобы направлять иммунный ответ на клетку, ткань или инфекционный агент, представляющий(ую) интерес. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 2, 3, 4, или 5 мишеней на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции расположены на поверхности клетки. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляют собой опухолевый антиген (например, опухолевые антигены и опухолеассоциированные/ассоциированные с раком антигены). Согласно дополнительным вариантам реализации одна или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации одна или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией,

связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом), сердечно-сосудистой системы, нервной системы или с инфекционным заболеванием.

Настоящее изобретение также охватывает мультивалентные и мультиспецифические композиции, которые связывают мишень, экспрессируемую на лейкоците. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает (1) мишень на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке) и (2) содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците, с тем, чтобы направлять иммунный ответ на клетку, ткань или инфекционный агент, представляющий(ую) интерес. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 2, 3, 4, или 5 мишеней на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции расположены на поверхности клетки. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляет собой опухолевый антиген (например, опухолевые антигены и опухолеассоциированные/ассоциированные с раком антигены). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопороз), сердечно-сосудистой системы, нервной системы или с инфекционным заболеванием.

Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, экспрессируемую на Т-клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает (1) мишень на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке) и (2) мишень на Т-клетке, с тем, чтобы сблизить миелоидные клетки с клеткой, тканью или инфекционным агентом, представляющим(ей) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания мишени (т.е. мультивалентно связывает мишень) на Т-клетке. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывает мишень) на Т-клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой MRD. Согласно другим вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой антигенсвязывающий домен антитела. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции не возбуждает сигнал при связывании указанной композицией мишени на Т-клетке. Согласно другим вариантам реализации связывание указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции не приводит к лизису Т-клетки, экспрессирующей указанную мишень. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, выбранную из CD2, CD3, CD4, CD8, CD161, рецептора хемокина, CD95 и CCR5. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 2, 3, 4, или 5 мишеней на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции расположены на поверхности клетки. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляет собой опухолевый антиген (например, опухолевые антигены и опухолеассоциированные/ассоциированные с раком антигены). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопороз), сердечно-сосудистой системы, нервной системы или с инфекционным заболеванием. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит гибридный белок, содержащий один или большее количество пептидов, которые связываются с белком на поверхности клетки, такой как Т-клетка. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает целевые ближайшие к мембране белковые последовательности на клетке и ингибирует перекрестное сшивание (например, мультимериза-

цию) целевого белка или ассоциированных с ним белков. Согласно конкретному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывается с Т-клеткой и ингибирует перекрестное сшивание клеточного белка или ассоциированных с ним белков. Например, согласно одному варианту реализации указанный мультивалентные и мультиспецифические антитела содержит 27 аминоконцевых аминокислот зрелого CD3-эпсилон. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит гибридный белок, содержащий один или большее количество белков, соответствующих G-домену белка CD3 (например, CD3-ε, CD3-γ, CD3-α (TCRA) или CD3-β (TCRB)). Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанный гибридный белок содержит полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из

GYYYVCYPRGSKPEDANFYLYLR

ARVC (SEQ ID NO:21), YLYLRAR (SEQ ID NO:22), YRCNGTDIYKDKESTVQ

VHYRMC (SEQ ID NO:23) и DKESTVQVH (SEQ ID NO:24).

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция содержит гибридный белок, содержащий один или большее количество белков, соответствующих фрагменту внеклеточного домена белка CD3 (например, CD3-ε, CD3-γ, CD3-α (TCRA) или CD3-β (TCRB)), который способен связывать CD3 или мультимер CD3. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанный гибридный белок содержит фрагмент белка CD3, который способен связывать CD3 или мультимер CD3, причем указанный фрагмент содержит связывающий CD3 фрагмент полипептида, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из

KIPIEELEDRVFVNCNTSITWVEG

TVGTLLSDITRLDLGKRILDPRIYRCNGTDIY KDKESTVQVHYRMCQSCVELD

(зрелый внеклеточный домен (ECD) CD3-δ человека, SEQ ID NO: 25),

QSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAAEK

NITWFKDGMIGFLTEDKKKWNLGSAKDPRGMYQCKGSQNKSKPLQVYYRM

CQNCIELN

(зрелый ECD CD3-γ человека, Ig-подобный домен выделен; SEQ ID NO: 26),

GNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGEDDDKNIGS

DEDHL SLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVM

(зрелый ECD CD3-ε человека, Ig-подобный домен выделен, SEQ ID NO: 27) и

QSFGLLDPK

(зрелый ECD CD3-зета человека, SEQ ID NO: 28). Согласно альтернативным вариантам реализации указанный гибридный белок содержит фрагмент хемокина, который связывает мишень на клеточной поверхности. Согласно некоторым вариантам реализации указанный фрагмент хемокина представляет собой фрагмент хемокина, выбранный из CCL20 (LARC/Ckβ4), CCL25 (TECK/Ckβ15), CXCL12 (SDF-1), CXCL13 (BCA-1), CXCL16 (SRPSOX) и CX3CL1 (фракталин). Согласно некоторым вариантам реализации указанный фрагмент хемокина представляет собой фрагмент хемокина, выбранный из CCL5 (RANTES), CCL8 (MCP-2), CXCL9 (MIG/CRG-10), CXCL10 (IP-10/CRG-2) и CXCL11 (TAC/IP-9). Согласно некоторым вариантам реализации указанный фрагмент хемокина представляет собой фрагмент хемокина, выбранный из CCL3 (MIP-1α) и CCL4 (MIP-1β).

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение включает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), которое связывает CD3 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 4329-4492 и 4493, приведенных в табл. 22. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание CD3 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 4329-4492 и 4493. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), которое связывается с тем же эпитопом CD3, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4329-4492 и 4493.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), который(ая/ое) связывает CD3 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из

IALMCSMHFDEVVWCSPYY (CD31916; SEQ ID NO:4494); PLMLCRHMKHFEYYC WPLA (CD3437; SEQ ID NO:4495); PVICQWTLELQCSPWT (CD3914; SEQ ID NO:4496); ILLECYWEDWRLVCSSLA (CD3434; SEQ ID NO:4497); KGTICWWHLEATCFATS (CD3702; SEQ ID NO:4498); и LREICVKVPYGVVCQRLP (CD31913; SEQ ID NO:4499).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию, конкурирующую(ий) за связывание CD3 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 4494-4498 и 4499. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), который(ая/ое) связывается с тем же эпитопом CD3, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4494-4498 и 4499. Согласно конкретным вариантам реализации указанная композиция связывает CD3-мишень, выбранную из CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD3-гамма, CD3-зета, TCR-альфа, TCR-бета, комплекс TCR или их гетеромерную или гомомультимерную комбинацию. Согласно дополнительному варианту реализации указанная композиция связывает CD3-эпсилон. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3 и несколько сайтов связывания 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней (например, опухолевый антиген согласно описанию в настоящем документе или известный в данной области техники). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывает) CD3. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный MRD, который связывает CD3 и несколько сайтов связывания 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней (например, опухолевый антиген согласно описанию в настоящем документе или известный в данной области техники). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный антигенсвязывающий домен антитела, который связывает CD3 и несколько сайтов связывания 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней (например, опухолевый антиген согласно описанию в настоящем документе или известный в данной области техники). Согласно конкретным вариантам реализации связывающие CD3 композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает CD3 человека и ортолог CD3 из другого организма. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3 человека и ортолог CD3 другого примата. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3 человека и ортолог CD3 яванского макака или макака-резуса. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3 человека и ортолог CD3 примата, выбранного из *Saguinus Oedipus* и *Callithrix jacchus*). Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3 человека, ортолог CD3 яванского макака и ортолог CD3 мыши или крысы. Согласно конкретным вариантам реализации связывающие CD3-эпсилон человека композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами. Согласно дополнительным конкретным вариантам реализации связывающие CD3 композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами.

В соответствии с одним вариантом реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает CD3-эпсилон человека. Согласно конкретному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает белок CD3-эпсилон человека, имеющий последовательность аминокислот 23-207, приведенную в референсной последовательности NCBI № NP_000724. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает полипептид, имеющий последовательность аминокислот

QDGNEEMGGITQTPYKVSISGTT VILT (SEQ ID NO:29).

Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает полипептид, имеющий последовательность аминокислот

QDGNEEMGGI (SEQ ID NO:30).

Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает полипептид, имеющий последовательность аминокислот

QDGNEEMGG (SEQ ID NO:31).

Согласно конкретным вариантам реализации связывающие CD3-эпсилон человека композиции,

предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами.

Согласно некоторым вариантам реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит единственный сайт связывания CD3-эпсилон (т.е. моновалентно связывает CD3-эпсилон) и несколько сайтов связывания 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней (например, В-клетки или другой мишени, раскрытой в настоящем документе). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) конкурирует за связывание с CD3 с антителом, выбранным из: ОКТ-3, отеликсизумаба, теплизумаба, визилизумаба, муромонаба, X35-3, VIT3, BMA030 (BW264/56), CLB-T3/3, CRIS7, YTH12.5, F111409, CLB-T3.4.2, TR-66, WT31, WT32, SPv-T3b, 11D8, XIII-141, XIII46, XIII-87, 12F6, T3/RW2-8C8, T3/RW24B6, ОКТ3D, M-T301, SMC2 и F101.01. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание с CD3 с антителом, выбранным из ОКТ-3, отеликсизумаба, теплизумаба, визилизумаба, муромонаба X35-3, VIT3, BMA030 (BW264/56), CLB-T3/3, CRIS7, YTH12.5, F111409, CLB-T3.4.2, TR-66, WT31, WT32, SPv-T3b, 11D8, XIII-141, XIII46, XIII-87, 12F6, T3/RW2-8C8, T3/RW24B6, ОКТ3D, M-T301, SMC2 и F101.01. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) конкурирует за связывание с CD3 со связывающей CD3 композицией, раскрытой в опубликованных международных заявках №№ WO 2004/106380 и WO 99/54440; Tunnacliffe et al., *Int. Immunol.* 1:546-550 (1989); Kjer-Nielsen, *PNAS* 101:7675-7680 (2004); или у Salmeron et al., *J. Immunol.* 147:3047-3052 (1991). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает CD3-эпсилон человека и ортолог CD3-эпсилон из другого организма. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает CD3-эпсилон человека и ортолог CD3-эпсилон другого примата. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3-эпсилон человека и ортолог CD3-эпсилон яванского макака или макака-резус. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3-эпсилон человека и ортолог CD3-эпсилон примата, выбранного из *Saguinus Oedipus* и *Callithrix jacchus*. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3-эпсилон человека, ортолог CD3-эпсилон яванского макака и ортолог CD3-эпсилон мыши или крысы. Согласно конкретным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-эпсилон.

Согласно другому варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает CD3-дельта человека. Согласно конкретному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3-дельта человека, имеющий последовательность аминокислот 22-171, приведенную в референсной последовательности NCBI № NP_000723. Согласно конкретным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-дельта. Согласно другим вариантам реализации антигенсвязывающий домен антитела указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-дельта. Согласно конкретным вариантам реализации связывающие CD3-эпсилон человека композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами.

Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает белок человека CD3-гамма, имеющий последовательность аминокислот 23-182, приведенную в референсной последовательности NCBI № NP_000064. Согласно конкретным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-гамма. Согласно конкретным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-гамма. Согласно другим вариантам реализации антигенсвязывающий домен антитела указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-гамма. Согласно конкретным вариантам реализации связывающие CD3-гамма человека композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами.

Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает белок CD3-зета человека, имеющий последовательность аминокислот 22-164, приведенную в референсной последовательности NCBI № NP_932170. Согласно конкретным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-зета. Согласно другим вариантам реализации антигенсвязывающий домен антитела указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-зета. Согласно конкретным вариантам реализации связывающие CD3-зета человека композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами.

Настоящее изобретение также охватывает мультивалентные и мультиспецифические композиции, которые связывают мишень, экспрессируемую на естественной клетке киллере. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает (1) мишень на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке) и (2) мишень на естественной клетке киллере. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания мишени (т.е. мультивалентно связывает мишень) на естественной клетке киллере. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывает мишень) на естественной клетке киллере. Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой MRD. Согласно другим вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой антигенсвязывающий домен антитела. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции не возбуждает сигнал при связывании указанной композицией мишени на естественной клетке киллере. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, выбранную из KLRD1, KLRK1, KLRB1, 2B4 (CD244), KIR2D4, KIR2D5 и KIR3DL1. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, выбранную из CD56, CD2 и CD161. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 2, 3, 4, или 5 мишеней на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции расположены на поверхности клетки. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляют собой опухолевый антиген (например, опухолевые антигены и опухолеассоциированные/ассоциированные с раком антигены). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом), сердечно-сосудистой системы, нервной системы или с инфекционным заболеванием. Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), который(ая/ое) связывает NKGD2 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из

FSLFCYNVHGWWECPVY (NKG1; SEQ ID NO:4500);
 SLTWCMVEKLHYWVICDRVA (NKG4; SEQ ID NO:4501);
 ILISCQEQWPVFQCYAVR (NKG7; SEQ ID NO:4502); HEEDCYWILYQHCPRAT
 (NKG9; SEQ ID NO:4503); LEHLCTTPMWFHCPGA (NKG12 SEQ ID NO:4504);
 SGLVCFSRFDWWEVCVWTS (NKG14; SEQ ID NO:4505);
 SLTRSRYQRFHYWVICDRVA (NKG15; SEQ ID NO:4506); и YTVACYYGVDQY
 WMCFSNS (NKG17; SEQ ID NO:4507).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию, конкурирующую за связывание NKGD2 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 4500-4506 и 4507. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело) с MRD-содержащим антителом, который(ая) связывается с тем же эпитопом NKGD2, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4500-4506 и 4507.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение содержит MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), который(ая) связывает CD319 (CRACC) и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из

WRLDCWENHEWDFWCWAHG (SEQ ID NO:4508); SLYECWRVVFVSFPRCPDGS (SEQ ID NO:4509); LYLLCEHVHDKHWECSWL (SEQ ID NO:4510); IHLRCTYVEPLYML CSPYA (SEQ ID NO:4511); TMMVECYMGYCYPTVF (SEQ ID NO:4512); VLLRCQYVGV SHICKSVD (SEQ ID NO:4513); LVLECFLIDAWYMKCHTTG (SEQ ID NO:4514); LRL YCIPVDHTFFKCTLYG (SEQ ID NO:4515); YCIYRCQVQCWMFPA (SEQ ID NO:4516); WHIACWEMRDVHWYVCEFFV (SEQ ID NO:4517); RVLQCKWVSSEYFQCVETS (SEQ ID NO:4518); VVVECFQVKEMYWSCRAV (SEQ ID NO:4519); и YLMYSTALEYPYF QCRQMV (SEQ ID NO:4520).

Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание CRACC с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 4508-4519 и 4520. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), который(ая) связывается с тем же эпитопом CRACC, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4508-4519 и 4520.

Согласно конкретным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD2. В соответствии с одним вариантом реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает человека CD2. Согласно конкретному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает белок CD2 человека, имеющий последовательность аминокислот 25-209, приведенную в референсной последовательности NCBI № NP_001758. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания CD2. Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой MRD. Согласно другим вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой антигенсвязывающий домен антитела. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания CD2. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции с CD2 не возбуждает сигнал на клетке, на которой экспрессируется CD2. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD2 и 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество других мишеней (например, опухолевый антиген согласно описанию в настоящем документе или известный в данной области техники). Согласно конкретным вариантам реализации связывающие CD2 композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает CD2 человека и ортолог CD2 из другого организма. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD2 человека и ортолог CD2 другого примата. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD2 человека и ортолог CD2 яванского макака или макака-резуса. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает мишень на миелоидной клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает (1) мишень на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке), и (2) мишень на иммунной вспомогательной клетке (например, миелоидной клетке), с тем, чтобы сблизить миелоидные клетки с клеткой, тканью или инфекционным агентом, представляющим(ей) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания мишени (т.е. мультивалентно связывает мишень) на миелоидной клетке. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывает мишень) на вспомогательной клетке (например, миелоидной клетке). Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой MRD. Согласно другим вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой антигенсвязывающий домен антитела. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции не возбуждает сигнал при связывании указанной композицией мишени на миелоидной клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая

композиция связывает рецептор Fc-гамма, выбранный из CD16 (т.е. рецептора Fc-гамма-II), CD64 (т.е. рецептора Fc-гамма) и CD32 (т.е. рецептор Fc-гамма-I). Согласно конкретным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD64 (т.е. рецептор Fc-гамма). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, выбранную из МНС класса 2 и его инвариантной цепи, TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 и TLR6. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 2, 3, 4 или 5 мишеней на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции расположены на поверхности клетки. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляют собой опухолевый антиген (например, опухолевые антигены и опухолеассоциированные/ассоциированные с раком антигены). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом), сердечно-сосудистой системы, нервной системы или с инфекционным заболеванием. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает представляющую интерес мишень на раковой клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает представляющую интерес мишень на иммунной клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает представляющую интерес мишень на пораженной заболеванием клетке. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает представляющую интерес мишень на инфекционном агенте (например, бактериальной клетке или вирусе). Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает способ лечения заболевания или расстройства путем введения нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, предложенной в настоящем изобретении. Конкретные варианты реализации относятся к способу лечения заболевания или расстройства путем введения нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), которая содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывающей мишень). Согласно некоторым вариантам реализации указанная вводимая мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная вводимая мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3), и несколько сайтов связывания мишени (т.е. способна к мультивалентному связыванию), расположенной на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолевого антигена на опухолевой клетке).

Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения пациенту терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), которая содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывающей мишень) и несколько сайтов связывания 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней. Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), которая содержит единственный сайт связывания CD3 (например, CD3-эпсилон), моновалентно связывающий CD3, и несколько сайтов связывания 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная опухолевая клетка относится к раковому заболеванию, выбранному из рака молочной железы, рака толстой и прямой кишки, рака эндометрия, рака почки (почечно-клеточного рака), рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, лейкоза, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака поджелудочной железы и рака щитовидной железы. Согласно некоторым вариантам реализации домен(ы) MRD и антитело в MRD-содержащем антителе представляют собой антагонисты соответствующих им мишеней. Согласно другим вариантам реализации домен(ы) MRD и антитело в MRD-содержащем антителе представляют собой агонисты соответствующей им мишени. Согласно другим вариантам реализации по меньшей мере один из доменов MRD в

MRD-содержащем антителе представляет собой антагонист соответствующей им целевой молекулы, а антитело представляет собой агонист соответствующей им целевой молекулы. Согласно еще одному варианту реализации по меньшей мере один из доменов MRD в MRD-содержащем антителе представляет собой агонист соответствующей им целевой молекулы, а антитело представляет собой антагонист соответствующей им целевой молекулы.

Согласно некоторым вариантам реализации и домен(ы) MRD, и антитело в MRD-содержащем антителе связываются с растворимыми факторами. Согласно некоторым вариантам реализации и домен(ы) MRD, и антитело в MRD-содержащем антителе связываются с молекулами клеточной поверхности. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один MRD в MRD-содержащем антителе связывается с молекулой клеточной поверхности, а антитело в MRD-содержащем антителе связывается с растворимым фактором. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один MRD в MRD-содержащем антителе связывается с растворимым фактором, а антитело в MRD-содержащем антителе связывается с молекулой клеточной поверхности.

Усовершенствованная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело), которая специфически связывает требуемую мишень или мишени, может также быть получен на основе ранее известных MRD или мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела). Например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10-20, 20-30, 30-50, 50-100, 100-150 или более 150 замен, удалений или вставок аминокислот могут быть введены в последовательность MRD или мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащее антитело), и может быть проведен скрининг полученного(ой) MRD или мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) за связывание с требуемой мишенью или мишенями, для антагонизирования активности мишени или агонизирования активности мишени согласно описанию в примерах или с применением техник, известных в данной области техники.

Дополнительные пептидные последовательности могут быть добавлены, например, для усиления стабильности MRD *in vivo* или сродства MRD в отношении его мишени.

Согласно определенным вариантам реализации связывание мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащее антитело) с ее мишенью (например, клеткой) усиливается по сравнению со связыванием MRD по отдельности, антитела по отдельности и/или комбинации MRD и антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанное связывание усиливается по меньшей мере приблизительно в 2 раза, по меньшей мере приблизительно в 5 раз, по меньшей мере приблизительно в 10 раз, по меньшей мере приблизительно в 20 раз, по меньшей мере приблизительно в 50 раз, по меньшей мере приблизительно в 75 раз, по меньшей мере приблизительно в 100 раз, по меньшей мере приблизительно в 500 раз или по меньшей мере приблизительно в 1000 раз.

Кроме того, согласно некоторым вариантам реализации связывание мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащее антитело) с мишенью (например, клеткой или молекулой, содержащей несколько эпитопов), экспрессирующей и мишень MRD, и мишень антитела, усиливается по сравнению со связыванием указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) с мишенью (например, клеткой или молекулой, содержащей несколько эпитопов), экспрессирующей только мишень MRD или только мишень антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанное связывание усиливается по меньшей мере приблизительно в 2 раз, по меньшей мере приблизительно в 5 раз, по меньшей мере приблизительно в 10 раз, по меньшей мере приблизительно в 20 раз, по меньшей мере приблизительно в 50 раз, по меньшей мере приблизительно в 75 раз, по меньшей мере приблизительно в 100 раз, по меньшей мере приблизительно в 500 раз или по меньшей мере приблизительно в 1000 раз. Указанная повышенная avidность может обеспечивать связывание мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) с мишенями, нацеливание на которые ранее представляло трудности, например, связанные с G-белком рецепторы и молекулы углеводов.

Кроме того, согласно некоторым вариантам реализации связывание мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащее антитело) с мишенью MRD усиливается в области (например, организма), где локализована мишень антитела, по сравнению с областью, где мишень антитела не экспрессируется или экспрессируется на более низком уровне. Согласно некоторым вариантам реализации связывание мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) с мишенью антитела усиливается в области (например, организма), где локализована мишень MRD, по сравнению с областью, где мишень MRD не экспрессируется или экспрессируется на более низком уровне. Согласно некоторым вариантам реализации указанное связывание усиливается по меньшей мере приблизительно в 2 раза, по меньшей мере приблизительно в 5 раз, по меньшей мере приблизительно в 10 раз, по меньшей мере приблизительно в 20 раз, по меньшей мере приблизительно в 50 раз, по меньшей мере приблизительно в 75 раз, по меньшей мере приблизительно в 100 раз, по меньшей мере приблизительно в 500 раз или по меньшей мере приблизительно в 1000 раз.

Согласно предпочтительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная

мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) сохраняет специфическую активность исходного антитела. Соответственно, согласно определенным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) способна индуцировать комплементзависимую цитотоксичность. Согласно определенным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) способна индуцировать антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (АЗКЦ). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) способна индуцировать апоптоз. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) способна уменьшать объем опухоли. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) способны ингибировать рост опухоли.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) демонстрирует повышенную активность или фармакодинамические свойства по сравнению с соответствующим антителом без присоединенного MRD. Соответственно, согласно определенным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) обладает большей авидностью, чем соответствующее антитело без присоединенного MRD. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) приводит к повышенной агрегации рецепторов по сравнению с соответствующим антителом без присоединенного MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) действует как антагонист активности мишени в более выраженной степени, чем соответствующее антитело без присоединенного MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) действует как агонист активности мишени в более выраженной степени, чем соответствующее антитело без присоединенного MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) имеет улучшенный профиль фармакодинамики по сравнению с соответствующим антителом без присоединенного MRD.

Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело обладает большей терапевтической эффективностью, чем соответствующее антитело без присоединенного MRD.

Согласно другим вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) оказывают один или большее количество следующих эффектов: ингибируют пролиферацию опухолевых клеток, уменьшают онкогенность опухоли, ингибируют рост опухоли, повышают выживаемость пациентов, запускают клеточную смерть опухолевых клеток, обеспечивают дифференцировку опухолеобразующих клеток в неонкогенное состояние или предотвращают метастазы опухолевых клеток. Согласно определенным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) по меньшей мере настолько же стабильна, как и соответствующее антитело без присоединенного MRD. Согласно определенным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) более стабильна, чем соответствующее антитело без присоединенного MRD. Стабильность MRD-антитела может быть измерена с применением способов, известных специалистам в данной области техники, включая, например, техники ИФА ELISA. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) стабильно в цельной крови при 37°C на протяжении по меньшей мере приблизительно 10 ч, по меньшей мере приблизительно 15 ч, по меньшей мере приблизительно 20 ч, по меньшей мере приблизительно 24 ч, по меньшей мере приблизительно 25 ч, по меньшей мере приблизительно 30 ч, по меньшей мере приблизительно 35 ч, по меньшей мере приблизительно 40 ч, по меньшей мере приблизительно 45 ч, по меньшей мере приблизительно 48 ч, по меньшей мере приблизительно 50 ч, по меньшей мере приблизительно 55 ч, по меньшей мере приблизительно 60 ч, по меньшей мере приблизительно 65 ч, по меньшей мере приблизительно 70 ч, по меньшей мере приблизительно 72 ч, по меньшей мере приблизительно 75 ч, по меньшей мере приблизительно 80 ч, по меньшей мере приблизительно 85 ч, по меньшей мере приблизительно 90 ч, по меньшей мере приблизительно 95 ч или по меньшей мере приблизительно 100 ч.

Согласно определенным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) обладает по меньшей мере таким же сродством к Fc-рецепторам, что и соответствующее исходное антитело. Согласно другим неисключительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) обладает по меньшей мере таким же сродством к рецепторам комплемента, что и соответствующее исходное антитело. Согласно другим неисключитель-

ным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) имеет по меньшей мере такой же период полувыведения, что и соответствующее исходное антитело. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) может экспрессироваться на уровнях, соизмеримых с уровнями экспрессии соответствующего исходного антитела.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) обладает повышенным сродством к Fc-рецепторам по сравнению с соответствующим исходным антителом. Согласно другим неисключительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) обладает повышенным сродством к рецепторам комплемента по сравнению с соответствующим исходным антителом. Согласно другим неисключительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) имеет увеличенный период полувыведения по сравнению с соответствующим исходным антителом. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) может экспрессироваться на уровнях, повышенных по сравнению с уровнями экспрессии соответствующего исходного антитела.

Иммуноконъюгаты (конъюгаты MRD-содержащего антитела с лекарственными средствами).

Применение конъюгатов антител с лекарственными средствами для местной доставки цитотоксических агентов обеспечивает направленную доставку лекарственного средства в опухоли и внутриклеточную аккумуляцию в опухолях, в случаях, когда системное введение указанных неконъюгированных лекарственных агентов может приводить к неприемлемым уровням токсичности не только для опухолевых клеток, которые требуется элиминировать, но и для нормальных клеток (Baldwin et al., *Lancet*, стр. 603-05 (1986); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", в "Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications", A. Pinchera et al., (ed.s), pp. 475-506) (1985)). Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение включает мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), ковалентно или иным образом связанную с цитотоксическим агентом (нагрузкой) (т.е. в виде комплексов мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции и цитотоксического агента (например, комплексов MRD-содержащего антитела и цитотоксического агента).

Согласно некоторым вариантам реализации указанный цитотоксический агент ковалентно связан с мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащим антителом), посредством линкера. Согласно некоторым вариантам реализации указанный линкер, соединяющий мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию с цитотоксическим агентом, может быть расщеплен протеазой. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный цитотоксический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибирующий рост агент, токсин (например, ферментативно активный токсин бактериального, грибного, растительного или животного происхождения или его фрагменты), радиоактивный изотоп (т.е. радиоконъюгат) или пролекарство. Способы применения иммуноконъюгатов (конъюгатов MRD-содержащего антитела с лекарственными средствами) также охвачены настоящим изобретением.

Цитотоксические агенты, которые могут быть ковалентно или иным образом связаны с мультивалентными и мультиспецифическими композициями (например, MRD-содержащим антителом), включают, не ограничиваясь указанным, любой агент, неблагоприятный для клеток (например, убивающий клетки). Цитотоксины, подходящие для композиций и способов согласно настоящему изобретению, включают, наряду с прочими, алкилирующие агенты, интеркалирующие агенты, антипролиферативные агенты, антимиотические агенты, связывающие тубулин агенты, алкалоиды барвинка, эндины, трихотены, подофиллотоксины или производные подофиллотоксинов, лекарственные средства семейства птеридинов, таксаны, антрациклины (например, даунорубин (ранее дауномицин) и доксорубин), антибиотики (например, дактиномицин (ранее актиномицин), доластатины (например, доластатин 10, доластатин 11 и доластатин 15)), ингибиторы топоизомеразы и химиотерапевтические агенты с комплексами платины (например, цисплатин).

Согласно некоторым вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат цитотоксический агент, который представляет собой деполимеризующий тубулин агент. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат ауристатин или производное или аналог ауристатина. Согласно одному варианту реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат монометил ауристатин Е (ММАЕ). Согласно еще одному варианту реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат монометил ауристатин F (ММАF). Согласно дополнительным вариантам реализации композиции с иммуноконъюгатом, предложенная в настоящем изобретении, содержит доластатин или пептидный аналог или производное доластатина, например ауристатин (см., например, патенты США №№ 5635483, 5780588 и 5663149).

Согласно дополнительным вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат молекулу майтансиноида. Майтансиноиды представляют собой ингибиторы митоза, действующие за счет ингибирования полимеризации тубулина. Способы получения майтансиноидов и их терапевтическое применение раскрыты, например, в патентах США №№ 5208020; 5416064, 6441163 и европейском патенте EP 0425235 B1, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанный цитотоксин представляет собой майтансиноид, производное или аналог майтансиноида. Фрагменты майтансиноидных лекарственных средств представляют собой привлекательные лекарственные фрагменты для конъюгатов антител с лекарственными средствами, поскольку они (i) относительно доступны для получения путем ферментации или химической модификации или дериватизации продуктов ферментации, (ii) поддаются дериватизации функциональными группами, подходящими для конъюгации с антителами посредством недисульфидных линкеров, (iii) стабильны в плазме и (iv) эффективны против клеток разнообразных опухолевых линий. Соединения майтансина, подходящие для применения в качестве фрагментов майтансиноидных лекарственных средств, хорошо известны в данной области техники и могут быть выделены из природных источников в соответствии с известными способами, получены с применением техник генной инженерии (см. Yu et al. PNAS 99:7968-7973 (2002)); либо майтансинол и аналоги майтансинола могут быть получены синтетически в соответствии с известными способами. Согласно конкретным вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, включают майтансиноид DM1 (N(2')-деацетил-N(2')-(3-меркапто-1-оксипропил)майтансин). Согласно другим конкретным вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, включают майтансиноид DM2. Согласно дополнительным вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, включают майтансиноид DM3 (N(2')-деацетил-N2-(4-меркапто-1-оксипентил)майтансин) или DM4 (N(2')-деацетил-N2-(4-меркапто-4-метил-1-оксипентил)майтансин).

Согласно некоторым вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, включают цитотоксический агент, который представляет собой алкилирующий агент. Согласно конкретным вариантам реализации указанный цитотоксический агент выбран из мехлоретамина, тиотепы, тиотепы хлорамбуцила, мелфалана, кармустина (BSNU), BCNU, ломустина (CCNU), циклофосамида, бусульфана, дибромманнитола и стрептозоцина.

Согласно другим вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, включают цитотоксический агент, который представляет собой антиметаболит. Согласно конкретным вариантам реализации указанный цитотоксический агент выбран из метотрексата, дихлорметотрексата, 6-меркаптопурина, 6-тиогуанина, цитарабина, 5-фторурацила и 5-фторурацила декарбазина.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанный конъюгат мультивалентной и мультиспецифической композиции и лекарственного средства (например, конъюгат MRD-содержащего антитела и лекарственного средства) способен обеспечивать двухцепочечные разрывы ДНК. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный конъюгат MRD-содержащего антитела и лекарственного средства содержит антибиотик из семейства калихемициновых антибиотиков, способный производить двухцепочечные разрывы ДНК в субпикомолярных концентрациях. Согласно дополнительным вариантам реализации конъюгат мультивалентной и мультиспецифической композиции и лекарственного средства (например, конъюгат MRD-содержащего антитела и лекарственного средства) содержит калихемицин. Информацию о получении конъюгатов с представителями семейства калихемицинов, см. например, в патентах США №№ 5712374, 5714586, 5739116, 5767285, 5770701, 5770710, 5773001 и 5877296 (все патенты принадлежат American Cyanamid Company). Структурные аналоги калихемицина, которые могут содержаться в конъюгате мультивалентной и мультиспецифической композиции и лекарственного средства (например, конъюгате MRD-содержащего антитела и лекарственного средства) согласно настоящему изобретению, включают, не ограничиваясь перечисленными, γ_1 , α_2 , α_3 , N-ацетил- γ_1 , PSAG и $\epsilon\alpha_1$ (Hinman et al., Cancer Research 53:3336-3342 (1993), и Lode et al., Cancer Research 58:2925-2928 (1998)).

Согласно другим вариантам реализации композиции с конъюгатом мультивалентной и мультиспецифической композиции и лекарственного средства (например, конъюгат MRD-содержащего антитела и лекарственного средства), предложенные в настоящем изобретении, включают цитотоксический агент, выбранный из адриамицина, доксорубина, митомицина С, бусульфана, цитоксина, хлорамбуцила, этопозиды, этопозиды фосфата, CC-1065, дуокармицина, KW-2189, CC1065, таксотера (доцетаксела), метоптерина, аминоптерина, топотекана, камптотецина, порфирамицина, блеомицина, тенипозиды, эсперамицинов, митрамицина, антрамицина (АМС), флударабина, тамоксифена, таксотера (доцетаксела), цитозинарабинозида (Ага-С), аденозинарабинозида, цисплатина, карбоплатина, цис-дихлор-диаминоплатины(II) (DDP), цисплатина, хлорохина, циклоспорина А, доцетаксела, паклитаксела, таксола, винорелбина, виндезина, цитохалазина В, грамицидина D, этидия бромида, эметина, митомицина, ифосфамида, циклофосфамида, тенопозиды, карминомицина, порфирамицина, дигидроксиантрацендиона, митоксантрона, митрамицина, дактиномицина, актиномицина D, пуромицина 1-дегидротестостерона, адриамицина, глюкокортикоидов, прокаина, тетракаина, лидокаина, пропранолола, эпотилона, QFA, комбретастина, комбретастина А4 фосфата, винбластина, винкристина, колхицина, гелданамицина, доксорубина,

хлорамбуцила, фенилендиамина ауристатина F (AFP)), монометилауристатина, представителей семейства агентов, известных в совокупности как комплекс LL-E33288, описанный в патентах США №№ 5053394, 5770710, а также эсперамицинов (патент США № 5877296) или их производного или аналога; а также их производных и аналогов. Дополнительные подходящие токсины и химиотерапевтические агенты описаны в источниках Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Ed. (Mack Publishing Co. 1995), а также Goodman and Gilman, "The Pharmacological Basis of Therapeutics", 7th Ed. (MacMillan Publishing Co. 1985). Кроме того, дополнительную информацию о типах цитотоксинов, линкеров и других способах, которые могут использоваться или быть рутинным образом адаптированы для конъюгирования с терапевтическими агентами с комплексом MRD-содержащего антитела, можно найти, например, в опубликованных международных заявках WO 2007/059404; Saito et al., Adv. Drug Deliv. Rev. 55:199-215 (2003); Trail et al., Cancer Immunol Immunother. 52:328-337 (2003); Payne, Cancer Cell 3:207-212 (2003); Allen, Nat. Rev. Cancer 2:750-763(2002); Pastan et al., Curr. Opin. Investig. Drugs 3:1089-1091 (2002) и Senter et al., Adv. Drug Deliv. Rev. 53:247-264 (2001); каждый из указанных источников полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Цитотоксические химиотерапевтические агенты, которые могут применяться с иммуноконъюгатами согласно настоящему изобретению (например, конъюгатах мультивалентных и мультиспецифических композиций с лекарственными средствами, таких как конъюгаты MRD-содержащего антитела с лекарственными средствами), включают ядовитые лектины и растительные или другие токсины (например, рицин, абрин, модессин, ботулиновый и дифтерийный токсины). Предполагается, что несколько копий токсина или комбинации различных токсинов могут, необязательно, быть соединены с мультиспецифической и мультивалентной композицией, предложенной в настоящем изобретении (например, MRD-содержащим антителом), с обеспечением таким образом дополнительной цитотоксичности. Ферментативно активные токсины и их фрагменты, которые могут применяться в композициях, предложенных в настоящем изобретении, включают, не ограничиваясь перечисленными, А-цепь дифтерийного токсина, несвязывающие активные фрагменты дифтерийного токсина, А-цепь экзотоксина (*Pseudomonas aeruginosa*), экзотоксин *Pseudomonas*, эндотоксин *Pseudomonas*, А-цепь рицина, А-цепь абрина, А-цепь модессина, альфа-сарцин, белки *Aleurites fordii*, рибонуклеазу, ДНКазу I, стафилококковый энтеротоксин-А, диантиновые белки, белки *Phytolacca americana* (PAPI, PAPII и PAP-S), ингибитор *Momordica charantia*, курцин, кротин, ингибитор *Saponaria officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, эномицин и трихотецены. См., например, Pastan et al., Cell 47:641 (1986), Goldenberg et al., Cancer Journal for Clinicians 44:43 (1994) и опубликованные международные заявки №№ WO 93/21232 и WO 93/21232; каждый из указанных источников полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Как правило, фрагменты лекарственных средств на основе пептидов могут быть получены путем образования пептидной связи между двумя или большим количеством аминокислот и/или пептидных фрагментов. Такие пептидные связи могут быть получены, например, в соответствии с методом жидкофазного синтеза (см. E. Schroder и K. Lubke, "The Peptides", volume 1, pp. 76-136, 1965, Academic Press), хорошо известным в области химии пептидов.

Ауристатиновые/доластатиновые фрагменты лекарственных средств могут быть получены в соответствии со способами согласно патентам США №№ 5635483 и 5780588; Pettit et al., J. Am. Chem. Soc. 111:5463-5465 (1989); Pettit et al., Anti-Cancer Drug Design 13:243-277 (1998); Pettit et al., Synthesis 719-725 (1996); Pettit et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 15:859-863 (1996); и Doronina et al., Nat. Biotechnol 21(7):778-784 (2003).

Согласно некоторым вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат высокорadioактивный атом. Доступны разнообразные радиоактивные изотопы для получения радиоконъюгатов с мультивалентными и мультиспецифическими композициями (например, MRD-содержащими антителами). Примеры включают At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} и радиоактивные изотопы Lu. Если конъюгат применяется для детекции, он может содержать радиоактивный атом для скинтиграфических исследований, например технеций-99 (tc^{99m}) или I^{123} , или спиновую метку для визуализации с помощью ядерного магнитного резонанса (ЯМР) (также известной как магнитная резонансная томография, МРТ), такую как, опять же, йод-123, йод-131, индий-111, фтор-19, углерод-13, азот-15, кислород-17, гадолиний, марганец или железо.

Радиоактивные или другие метки могут быть включены в конъюгат с применением известных в данной области техники техник. Например, пептид может быть синтезирован биологически или путем химического аминокислотного синтеза с применением подходящих предшественников аминокислот, с включением, например, фтора-19 вместо водорода. Метки, такие как технеций-99 (tc^{99m}) или I^{123} , Re^{186} , Re^{188} и In^{111} , могут быть присоединены к пептиду через остаток цистеина. Иттрий-90 может быть присоединен через остаток лизина. Метод IODOGEN (Fraker et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 80: 49-57 (1978)) может применяться для включения йода-123. В источнике "Моноклональные антитела в иммуносцинтиграфии" ("Monoclonal Antibodies in Immunosciintigraphy", Chatal, CRC Press 1989) подробно описаны другие способы, которые могут рутинным образом применяться для мечения композиций, предложенных в настоящем изобретении.

Линкер может представлять собой "расщепляемый линкер", облегчающий высвобождение лекарст-

венного средства в клетке. Например, может применяться кислотолабильный линкер (например, гидразон), чувствительный к протеазе (например, чувствительный к пептидазе) линкер, фотолабильный линкер, диметильный линкер или дисульфидсодержащий линкер (Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992); патент США № 5208020, опубликованная заявка на патент США № 20110293513). Соответственно, настоящее изобретение охватывает мультивалентные и мультиспецифические композиции, содержащие один или большее количество линкеров, которые могут содержать в качестве части цепи любые из разнообразных групп, расщепляющихся *in vivo*, например, в клетке, со скоростью, повышенной относительно скорости расщепления конструкций, в которых отсутствуют такие группы. Также предложены конъюгаты линкерных фрагментов с терапевтическими и диагностическими агентами. Указанные линкеры подходят для получения аналогов пролекарственных терапевтических агентов и для обратимого связывания терапевтического или диагностического агента (например, цитотоксина или MRD) с агентом для нацеливания, детектируемой меткой или твердой подложкой. Указанные линкеры могут быть стабильными в плазме, не высвобождая MRD или цитотоксический агент. В случае цитотоксинов линкеры могут быть стабильными в плазме и лабильными при интернализации для высвобождения цитотоксина в активной форме.

Домены MRD и/или цитотоксические агенты, необязательно, соединены друг с другом или с мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащим антителом) согласно настоящему изобретению линкером согласно описанию в настоящем документе или известным из других источников в данной области техники. Конъюгаты MRD-содержащего антитела с MRD или цитотоксическим агентом могут быть получены с применением различных бифункциональных связывающих белки агентов, известных в данной области техники, включая, но не ограничиваясь перечисленными, связывающие агенты, содержащие группу, выбранную из 6-малеимидокапроила (MC), малеимидокапроил-полиэтиленгликоля ("MC(PEG)6-OH" (подходит для присоединения к цистеинам антитела)), малеимидопропаноила (MP), MPBH, валин-цитруллина (val-cit (пример дипептида в расщепляемом протеазой линкере)), метил-валин-цитруллина ("Me-Val-CitN", линкера, в котором пептидная связь была модифицирована для предотвращения расщепления катепсином B) аланин-фенилаланина (ala-phe), р-аминобензилоксикарбонила (PAB (пример "саморасщепляющегося" линкерного компонента)), валин-цитруллин-р-аминобензилоксикарбонила ("vc-PAB»), N-сукцинимидил-4-(2-пиридилтио) пентаноата (SPP), N-сукцинимидил 4-(N-малеимидометил)циклогексан-1 карбоксилата (SMCC), LC-SMCC, N-сукцинимидил(4-йод-ацетил)аминобензоата (SIAB), IT (иминотиолана), SPDP (N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионата), 6-малеимидокапроил-валин-цитруллин-р-аминобензилоксикарбонила (MC-vc-PAB), этиленокси-CH₂CH₂O- в виде одной или большего количества повторяющихся единиц ("EO" или "PEO"), BMPS (сложного эфира N-β-малеимидопропил-оксисукцинимид), EMCS (сложного эфира N-ε-малеимидокапроил-оксисукцинимид), GMBS (сложного эфира N-γ-малеимидобутирил-оксисукцинимид), HBVS (винилсульфона), MBS (сложного эфира м-малеимидобензоил-N-гидроксисукцинимид), SBAP (сукцинимидил-3-(бромацетамидо)пропионата), SIA (сукцинимидилйод-ацетата), SMPB (сукцинимидил-4-(п-малеимидофенил)бутирата), SMPH (сукцинимидил-6-(β-малеимидопропионамидо)гексаноата), сульфо-EMCS (сложного эфира N-ε-малеимидокапроил-оксисукцинимид) (сложного эфира N-ε-малеимидо-капроил-оксисульфосукцинимид), сульфо-GMBS (сложного эфира N-γ-малеимидобутирил-оксисульфосукцинимид), сульфо-KMUS (сложного эфира N-[κ-малеимидоундеканоилокси]сульфосукцинимид), сульфо-MBS (сложного эфира м-малеимидобензоил-N-гидроксисульфосукцинимид), сульфо-SMCC (сульфосукцинимидил-4-[N-малеимидометил]циклогексан-1-карбоксилата), сульфо-SIAB (сульфосукцинимидил(4-йодацетил)аминобензоата), сульфо-SMPB (сукцинимидил-4-(п-малеимидофенил)бутирата) (сульфосукцинимидил-4-(N-малеимидофенил)бутирата), SVSB (сукцинимидил-(4-винилсульфон)бензоата), бифункциональные производные сложных имидоэфиров (такие как диметиладипимидат HCl), активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидилсуберат), альдегиды (такие как глутаральдегид), бис-азидосоединения (такие как бис-(р-азидобензоил)гександиамин), производные бис-диазония (такие как бис-(р-диазонийбензоил)-этилендиамин), диизоцианаты (такие как толуол-2,6-диизоцианат) и бис-активные соединения фтора (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол). Дополнительные линкерные компоненты известны в данной области техники и некоторые из них описаны в настоящем документе.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция ковалентно связана с цитотоксическим агентом посредством линкера в 1-5, 5-10, 1-10 или 1-20 сайтах на мультивалентной и мультиспецифической композиции. В соответствии с дополнительными вариантами реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция ковалентно связана с цитотоксическим агентом посредством линкера более чем в 2, 5 или 10 сайтах на мультивалентной и мультиспецифической композиции.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс с мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащее антитело) связан с пролекарством. Синтез пролекарства, химическое связывание с антителами и фармакодинамические свойства известны в данной области техники и могут рутинным образом использоваться для получения и приме-

нения предложенных в настоящем изобретении мультивалентных и мультивалентных композиций, которые содержат пролекарства, например, композиций с MRD-содержащим антителом и пролекарством. См., например, межд. публ. № WO 96/05863 и патент США № 5962216, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Как вариант, гибридный белок, содержащий антитело и цитотоксический агент, может быть получен, например, с применением рекомбинантных техник или пептидного синтеза. Молекула рекомбинантной ДНК может содержать области, кодирующие антитело и цитотоксические фрагменты конъюгата, смежные друг с другом или разделенные областью, кодирующей линкерный пептид, не устраняющий требуемые свойства конъюгата.

Мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело), предложенная в настоящем изобретении, также может быть конъюгирована с радиоактивным изотопом для получения цитотоксических радиофармацевтических средств, также называемых радиоиммуноконъюгатами. Примеры радиоактивных изотопов, которые могут быть конъюгированы с мультивалентными и моновалентными мультиспецифическими композициями (например, MRD-содержащими антителами) для диагностического или терапевтического применения, включают, не ограничиваясь перечисленными, иод¹³¹, индий¹¹¹, иттрий⁹⁰ и лютеций¹⁷⁷. В данной области техники установлены способы получения радиоиммуноконъюгатов. Примеры радиоиммуноконъюгатов коммерчески доступны, включая ZevalinTM (IDEC Pharmaceuticals) и BexxarTM (Corixa Pharmaceuticals); аналогичные способы могут применяться для получения радиоиммуноконъюгатов с применением MRD-содержащих антител согласно настоящему изобретению.

Способы конъюгации линкерных фрагментов с лекарственным средством и нацеленными на клетки белками, такими как антитела, известны в данной области техники и включают описанные, например, в патентах США №№ 5208020 и 6441163; опубликованные международные заявки №№ WO 2005037992, WO 2005081711 и WO 2006/034488, каждая(ый) из которых полностью включен(а) в настоящий документ посредством ссылки. См., также например, источники Arnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", в Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al., (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", в Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al., (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Saito et al., Adv. Drug Deliv. Rev. 55:199-215 (2003); Trail et al., Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337 (2003); Payne, Cancer Cell 3:207-212 (2003); Allen et al., Nat. Rev. Cancer 2:750-763 (2002); Pastan et al., Curr. Opin. Investig. Drugs 3:1089-1091 (2002); и Senter et al., Adv. Drug Deliv. Rev. 53:247-264 (2001), содержание каждого из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно некоторым вариантам реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция, предложенная в настоящем изобретении, содержит цитотоксический агент (например, конъюгат MRD-содержащее антитело-цитотоксический агент) и может в общем случае называться в настоящем документе иммуноконъюгатом. Согласно некоторым вариантам реализации иммуноконъюгат согласно настоящему изобретению связывает мишень на клеточной поверхности, которая интернализуется клеткой. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание иммуноконъюгата согласно настоящему изобретению (например, конъюгата MRD-содержащего антитела и цитотоксического агента) с мишенью на клеточной поверхности приводит к интернализации иммуноконъюгата клеткой *in vitro*. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание иммуноконъюгата с мишенью на клеточной поверхности приводит к интернализации композиции клеткой *in vivo*. Способы лечения пациента, описанные в настоящем документе, могут включать введение пациенту терапевтически эффективного количества иммуноконъюгата (например, предложенной в настоящем изобретении мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, содержащей цитотоксический агент, например, конъюгата MRD-содержащего антитела и цитотоксического агента), который содержит цитотоксический агент и связывает мишень, которая интернализуется клеткой. Согласно некоторым вариантам реализации указанный иммуноконъюгат содержит цитотоксический агент, раскрытый в настоящем документе. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный иммуноконъюгат содержит цитотоксический агент, выбранный из алкилирующего агента, антипролиферативного агента, связывающего тубулин агента, алкалоида барвинка, енедиина, подофиллотоксина, производного подофиллотоксина, представителя семейства птерициновых лекарственных средств, таксана, доластатина, ингибитора топоизомеразы или химиотерапевтического агента с комплексом платины. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный цитотоксический агент представляет собой майтансиноид, производное или аналог майтансиноида. Согласно конкретным вариантам реализации указанный цитотоксический агент представляет собой майтансиноид DM1, DM2 или DM3. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный цитотоксический агент представляет собой ауристин или производное или аналог ауристатина. Согласно конкретным вариантам реализации указанный цитотоксический агент представляет собой MMAE или MMAR. Указанные цитотоксические агенты, необязательно, присоединены к другим компонентам иммуноконъюгата посредством линкера. Согласно некоторым вариантам реализации указанный цитотоксический агент присоединен к другим компонентам иммуноконъюгата посредством ферментативно расщепляемого линкера. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный цитотоксический

агент присоединен к другим компонентам иммуноконъюгата посредством кислотолабильного линкера.

Согласно дополнительным вариантам реализации активность несвязанного цитотоксического агента иммуноконъюгата согласно настоящему изобретению составляет менее 10^{-7} М, 10^{-8} М или 10^{-9} М. Согласно дополнительным вариантам реализации активность несвязанного цитоксина составляет от 10^{-8} до 10^{-11} М.

Согласно некоторым вариантам реализации мишень, связываемая указанным иммуноконъюгатом, выбрана из CD19, CD22, CD30, CD33, CD56, CD70, CD79a, CD80, CD83, CD95, CD126, CD133, CD138, PCMA, EphA2, ErbB2 (CD340), SLC44A4, MN (карбоангидразы IX), GPNMB (гликопротеина нематастической меланомы), Cripto и интегрина αV . Согласно дополнительным вариантам реализации мишень, связываемая указанным иммуноконъюгатом, выбрана из CD1, CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD8, CD11A, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD25, TNFRSF5 (CD40), CD64, CD74, CD79, CD105, CD174, CD205, CD227, CD326, CD340, муцина 16 (MUC16), эпителиального гликопротеина-1 (EGP-1), EGP-2, рецептора ЭФР (ErbB1), ErbB2, ErbB3, фактора H, FHL-1, Flt-3, рецептора фолиевой кислоты, Ga 733, GROB, HMGB-1, индуцируемого гипоксией фактора (HIF), HM1.24, HER-2/neu, инсулиноподобного фактора роста (ILGF), ИФН- γ , ИФН- α , ИФН- β , pIL-2, pIL-4, pIL-6, pIL-13, pIL-15, pIL-17, pIL-18, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-25, IP-10, pIFP-1, Ia, HM1.24, HCG, HLA-DR, ED-B, TMEFF2, EphB2, FAP (белка активации фибробластов), мезотелина, pЭФР, TAG-72, GD2 (кодируемого геном B4GALNT1) и 5T4.

Согласно дополнительным вариантам реализации мишень, связываемая указанным иммуноконъюгатом, представляет собой миелоидную и гематопоезическую мишень, выбранную из CD33, CD64, TNFRSF5 (CD40), CD56 и CD138. Согласно дополнительным вариантам реализации мишень, связываемая указанным иммуноконъюгатом, представляет собой мишень карциномы, выбранную из молекулы адгезии эпителиальных клеток (EpCam), GD2, pЭФР, CD74, CD227, CD340, муцина 16 (MUC16), GD2, GPNMB, PCMA, crypto, TMEFF2, EphB2, 5t4, мезотелина, TAG-72 и MN.

Согласно другим вариантам реализации мишень, связываемая указанным иммуноконъюгатом, представляет собой В-клеточную мишень, выбранную из CD19/CD21, CD20, CD22, TNFRSF5 (CD40), CD70, CD79a, CD79b и CD205. Согласно дополнительным вариантам реализации мишень, связываемая указанным иммуноконъюгатом, представляет собой Т-клеточную мишень, выбранную из CD25, CD30, TNFRSF5 (CD40), CD70 и CD205. Согласно дополнительным вариантам реализации связываемая мишень представляет собой мишень, выбранную из CD105 на эндотелиальных клетках, FAP на стромальных клетках и сосудистой мишени ED-B.

Согласно дополнительным вариантам реализации иммуноконъюгат согласно настоящему изобретению связывается с опухолевым антигеном клеточной поверхности и второй мишенью, которая связана с путем ускользания при устойчивости к химиотерапии. Согласно некоторым вариантам реализации указанный опухолевый антиген клеточной поверхности выбран из pЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, pФРФ, pФР-ЭС-1, pФРЭС-2, pФРЭС-3, pТрФР-1, CD3, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD37, CD56, CD70, CD133, CD138, FOLR1, pИФР-1, Cripto, SLC44A4 и GCC.

Согласно дополнительным вариантам реализации иммуноконъюгат связывает Р-гликопротеин (кодируемый MDR1) и антиген клеточной поверхности. Согласно конкретным вариантам реализации указанный антиген клеточной поверхности представляет собой опухолевый антиген. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный опухолевый антиген выбран из pЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, pФРФ, pФРЭС-1, pФРЭС-2, pФРЭС-3, pТрФР-1, CD3, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD37, CD56, CD70, CD133, CD138, FOLR1, pИФР-1, Cripto, SLC44A4 и GCC. Согласно конкретным вариантам реализации указанный иммуноконъюгат конкурирует за связывание CD30 с SGN-35 (брентуксимабом). Согласно дополнительным вариантам реализации указанный иммуноконъюгат конкурирует за связывание ErbB2 с трастузумабом.

Согласно дополнительным вариантам реализации иммуноконъюгат связывает MRP (ассоциированный с множественной лекарственной устойчивостью белок) и антиген клеточной поверхности. Согласно конкретным вариантам реализации указанный антиген клеточной поверхности представляет собой опухолевый антиген. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный опухолевый антиген выбран из pЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, pФРФ, pФРЭС-1, pФРЭС-2, pФРЭС-3, pТрФР-1, CD3, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD37, CD56, CD70, CD133, CD138, FOLR1, pИФР-1, Cripto, SLC44A4 и GCC. Согласно конкретным вариантам реализации указанный иммуноконъюгат конкурирует за связывание CD30 с SGN-35 (брентуксимабом). Согласно дополнительным вариантам реализации указанный иммуноконъюгат конкурирует за связывание ErbB2 с трастузумабом.

Как вариант, может быть получен гибридный белок, содержащий указанное антитело и цитотоксический агент, например, в помощью рекомбинантных техник или пептидного синтеза. Отрезок ДНК может содержать соответствующие области, кодирующие два фрагмента конъюгата, либо смежные, либо разделенные областью, кодирующей линкерный пептид, не устранивший нужные свойства указанного конъюгата.

Дополнительно предложены следующие варианты реализации для любых из описанных выше им-

муноконъюгатов. Согласно одному варианту реализации иммуноконъюгат обладает киллинговой активностью в отношении клеток *in vitro* или *in vivo*. Согласно одному варианту реализации указанный линкер присоединен к антителу через тиольную группу антитела. Согласно одному варианту реализации указанный линкер может быть расщеплен протеазой. Согласно одному варианту реализации указанный линкер содержит дипептид валин-цитруллин. Согласно одному варианту реализации указанный линкер содержит п-аминобензильную единицу. Согласно одному варианту реализации указанная п-аминобензильная единица располагается между лекарственным средством и сайтом расщепления протеазой в линкере. Согласно одному варианту реализации указанная п-аминобензильная единица представляет собой п-аминобензилоксикарбонил (PAB). Согласно одному варианту реализации указанный линкер содержит б-малеимидокапроил. Согласно одному варианту реализации указанный б-малеимидокапроил располагается между антителом и сайтом расщепления протеазой в линкере. Перечисленные выше варианты реализации могут использоваться по отдельности или в любой комбинации друг с другом.

MRD-содержащее антитело согласно настоящему изобретению может также быть конъюгировано с активирующим пролекарство ферментом, преобразующим пролекарство (например, пептидильный химиотерапевтический агент, см., например, WO 81/01145) в активное противораковое лекарственное средство. См., например, WO 88/07378 и патент США № 4975278, содержание которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. Ферментный компонент иммуноконъюгата предпочтительно способен воздействовать на пролекарство таким образом, чтобы оно преобразовалось в более активную цитотоксическую форму. См., например, Pastan et al., *Cell*, 47:641 (1986), и Goldenberg et al., *Cancer Journal for Clinicians*, 44:43 (1994). Ферментативно активные токсины и их фрагменты, которые могут применяться, включают А-цепь дифтерийного токсина, несвязывающие активные фрагменты дифтерийного токсина, А-цепь экзотоксина (*Pseudomonas aeruginosa*), А-цепь рицина, А-цепь абрина, А-цепь модессина, α -сарцин, белки *Aleurites fordii*, диантиновые белки, белки *Phytolacca americana* (PAPI, PAPII и PAP-S), ингибитор *Momordica charantia*, курцин, кротин, ингибитор *Saponaria officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, эномицин и трихотецены. См., например, WO 93/21232.

Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции, предложенные в настоящем изобретении (например, MRD-содержащие антитела), конъюгированы с радиоизотопом, таким как ^{90}Y , ^{125}I , ^{131}I , ^{123}I , ^{111}In , ^{105}Rh , ^{153}Sm , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{186}Re и ^{188}Re , с применением любого из ряда хорошо известных хелаторов или путем прямого мечения. Согласно другим вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело соединяют с лекарственными средствами, пролекарствами или лимфокинами, такими как интерферон. В композиции, предложенные в настоящем изобретении, может быть внесена метка с помощью реагентов-лигандов, которые связывают, хелатируют или иным образом образуют комплекс с радиоизотопом металла, причем указанный реагент способен вступать в реакцию с тиольной группой встроенных цистеинов антитела, с применением техник, известных в данной области техники, таких как описанные в источнике: *Current Protocols in Immunology*, т. 1 и 2, Coligen et al., Ed. Wiley-Interscience, New York, N.Y., Pubs. (1991). Хелатные лиганды, способные образовывать комплекс с ионом металла и подходящие для применения в композициях и способах согласно настоящему изобретению, включают DOTA, DOTP, DOTMA, DTPA и TETA (Macrocyclics, Даллас, Техас). Нацеливание на радионуклиды может обеспечиваться за счет образования комплексов с конъюгатами антител с лекарственными средствами согласно настоящему изобретению (Wu et al. *Nature Biotechnology* 23(9): 1137-1146 (2005)). Линкерные реагенты, такие как DOTA-малеимид (4-малеимидобутирамидобензил-DOTA), могут быть получены с применением реакции аминокбензил-DOTA с 4-малеимидомасляной кислотой (Fluka), активированной изопропилхлорформиаом (Aldrich), после процедуры согласно Axworthy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97(4):1802-1807 (2000)). DOTA-малеимидные реагенты вступают в реакцию со свободными встроенными цистеинами в антителах и обеспечивают присутствие образующего металлокомплекс лиганда на антителе (Lewis et al., *Bioconj. Chem.* 9:72-86 (1998)). Коммерчески доступны хелатирующие линкерные реагенты для мечения, такие как DOTA-NHS (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусной кислоты моно-(N-гидроксисукцинимидный сложный эфир) (Macrocyclics, Даллас, Техас).

Конъюгаты мультивалентных и мультиспецифических композиций, предложенных в настоящем изобретении (например, MRD-содержащих антител), и цитотоксина могут быть рутинным образом получены с применением разнообразных бифункциональных связывающих белки агентов, таких как N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитиол)пропионат (SPDP), иминотиолан (IT), бифункциональные производные сложных имидоэфиров (такие как диметиладипимидат HCL), активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидилсуберат), альдегиды (такие как глутаральдегид), бис-азидосоединения (такие как бис-(p-азидобензоил)гександиамин), производные бис-диазония (такие как бис-(p-диазонийбензоил)этилендиамин), диизоцианаты (такие как толуол-2,6-диизоцианат) и бис-активные соединения фтора (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол). Согласно конкретным вариантам реализации указанный токсин конъюгирован с MRD-содержащим антителом посредством ферментативно расщепляемой линкерной системы (например, такой как в SGN-35). Могут также применяться конъюгаты MRD-содержащего антитела и одного или большего количества низкомолекулярных токсинов, таких как калихемицин, майтансиноиды, трихотецен и CC1065, и производных указанных токсинов, обладающих токсической активностью.

Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело может образовывать комплекс или содержать домены MRD, которые связываются с другими иммунологически активными лигандами (например, хемокинами, цитокинами и антителами или их фрагментами), причем полученная молекула связывается с неопластической клеткой или другой мишенью, а также хемокином, цитокином или эффекторной клеткой, такой как Т-клетка. Согласно определенным вариантам реализации указанные конъюгаты могут быть получены в виде гибридных белков. Ферменты согласно настоящему изобретению могут быть ковалентно связаны с антителом с применением техник, хорошо известных в данной области техники, например, с применением гетеробифункциональных реагентов для перекрестного связывания, описанных выше. Как вариант, гибридные белки, содержащие по меньшей мере антиген-связывающую область антитела согласно настоящему изобретению, соединенную с минимальным функционально активным фрагментом фермента согласно настоящему изобретению, могут быть сконструированы с применением техник рекомбинантной ДНК, известных в данной области техники.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный N-конец или C-конец антитела, с которым функционально связан MRD в указанные гибриды MRD-антитело, урокочен. Согласно предпочтительным вариантам реализации указанное урокочение не предотвращает или не уменьшает способность указанного антитела связываться с целевым антигеном через антигенсвязывающий домен. Согласно другим вариантам реализации указанное урокочение не предотвращает или не уменьшает эффекторную функцию, период полувыведения и/или АЗКЦ-активность Fc. Согласно другим вариантам реализации домены MRD присоединены в концевой области цепи указанного антитела. В частности, согласно определенным вариантам реализации указанный MRD присоединен в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 остатков от C-концевой аминокислоты тяжелой цепи. Согласно другим вариантам реализации указанный MRD присоединен в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 остатков от C-концевой аминокислоты легкой цепи. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный MRD присоединен в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 остатков от N-концевой аминокислоты тяжелой цепи. Согласно другим вариантам реализации указанный MRD присоединен в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 остатков от N-концевой аминокислоты легкой цепи. Соответственно, например, MRD, который соединен с N-концом тяжелой цепи, может быть присоединен к первой, второй, третьей, четвертой, пятой или десятой аминокислоте от N-конца тяжелой цепи. Например, гибрид MRD-антитело, содержащий MRD, соединенный с N-концом тяжелой цепи, может включать аминокислоты 1-3 последовательности тяжелой цепи, соединенной с указанным MRD, который соединен с аминокислотой 4 последовательности тяжелой цепи.

Согласно определенным вариантам реализации один или большее количество доменов MRD присоединены к антителу в локализациях, отличных от концов легких и тяжелых цепей антитела. Указанный MRD может быть присоединен к любому фрагменту антитела, не устраняющему способность указанного антитела связывать соответствующую ему мишень. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD расположен вне антитело-комбинирующего сайта. Например, указанный MRD может быть расположен в пределах последовательности тяжелой цепи или в пределах последовательности легкой цепи. В неограничивающем примере MRD может быть расположен между Fc-доменом и шарнирной областью, между шарнирной областью и доменом CH1 тяжелой цепи, между доменом CH1 и вариабельной областью тяжелой цепи или между константной областью и вариабельной областью легкой цепи.

Согласно наблюдениям ингибиторы ангиогенеза, нацеленные на опосредованные фактором роста эндотелия сосудов (ФРЭС) сигнальные пути, обеспечивают наилучшие временные благоприятные терапевтические эффекты с последующим восстановлением роста и прогрессированием опухоли ввиду предполагаемой способности ангиогенных опухолей адаптироваться к присутствию указанных ингибиторов. Без связи с теорией считается, что мультивалентные и мультиспецифические свойства мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), которые связывают ангиогенную мишень, обеспечивают указанным соединениям способность оказывать расширенные благоприятные антиангиогенные терапевтические эффекты по сравнению с наблюдаемыми, например, при терапии стандартными моноклональными антителами, за счет связывания нескольких отдельных связанных с ангиогенезом мишеней и разрушения таким образом механизмов устойчивости, которыми обладает ангиогенная опухоль.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает 2 или большее количество мишеней, выбранных из ФРЭС (т.е. ФРЭС-А), ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TIE2, TNFSF2 (ФНО- α), рФРФ-3, EFNa1, EFNa2, ANG1, ANG2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ФРГ, ТрФР-А, ПФР, ТрФР-В, CXCL12, KIT, ГКСФ, CXCR4, PTPRC, TIE2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, Notch1, DLL4, EGFL7, интегрин $\alpha 2\beta 1$, интегрин $\alpha 4\beta 1$, интегрин $\alpha 5\beta 1$, интегрин $\alpha v\beta 3$, ТФР- β , MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAУ, VCAM1, рТцФР-А и рТцФР-В. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФРЭС и 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Со-

гласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФРЭС. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой бевацизумаб. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФРЭС и 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФРЭС. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой бевацизумаб.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФРЭС (т.е. ФРЭС-А) и дополнительно связывает ангиогенную мишень, выбранную из ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TNFSF2 (ФНО- α), рФРФ-3, EFNa1, EFNa2, ANG1, ANG2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ФРГ, TIE2, ТрФР-А, PIGF, ТрФР-В, CXCL12, KIT, ГКСФ, CXCR4, PTPRC, TIE2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, Notch1, DLL4, ЭФР-подобного домена 7 (EGFL7), интегрин $\alpha 2 \beta 1$, интегрин $\alpha 4 \beta 1$, интегрин $\alpha 5 \beta 1$, интегрин $\alpha v \beta 3$, ТФР- β , MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAУ, VCAM1, рТцФР-А и рТцФР-В. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФРЭС и 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФРЭС. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой бевацизумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание ФРЭС с бевацизумабом.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФНО- α и дополнительно связывает мишень, выбранную из: Те38, ИЛ-12, ИЛ-12p40, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-1 β , ИЛ-23, MIF, PEG2, PGE4, ФРЭС, TNFSF11 (RANKL), TNFSF13B (BLYS), GP130, CD-22 и CTLA-4. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФНО- α , ИЛ-6 и TNFSF13B (BLYS). Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФНО и 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой адалимумаб, цертолизумаб, голимумаб или AME-527. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание ФНО с адалимумабом, цертолизумабом, голимумабом или AME-527.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-1 α и ИЛ-1 β . Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-1 β и TNFSF11 (RANKL). Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-1 β и мишень, выбранную из ИЛ-13, ИЛ-17A, ФНО, ФРЭС, PGE2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, TNFSF12 (TWEAK) и ФНО. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ИЛ-1 β и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ИЛ-1 β . Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой катумаксомаб, Хома052, канакинумаб или ACZ885. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание ИЛ-1 α или ИЛ-1 β с катумаксомабом, Хома052, канакинумабом или ACZ885.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-12. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-12 и дополнительно связывает ИЛ-18 или TNFSF12 (TWEAK). Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CTLA-4 и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CTLA-4. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой бриакинумаб или устекинумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание ИЛ-12 с бриакинумабом или устекинумабом.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает CTLA-4. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает CTLA4 и дополнительно связывает PDL-1 или BTNO2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CTLA-4 и одну или обе из указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CTLA-4. Согласно дополнительным вариантам реализации анти-

тело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой тремелимуаб или иплимуаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание CTLA-4 с тремелимуабом или иплимуабом.

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-13. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-13 и дополнительно связывает мишень, выбранную из: ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-9, ИЛ-13, ИЛ-25, агониста рецептора лютеинизирующего гормона (LHR), цитокина макрофагов (MDC), MIF, PED2, малого богатого пролином белка 2a (SPRR2a), малого богатого пролином белка 2b (SPRR2b); регулируемого тимусом и активацией хемокина (TARC), ТФР- β и ИЛ-25. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-13 и мишень, выбранную из ИЛ-5, ADAM8, LHR (агонист), ИЛ-23p19 и IgE. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ИЛ-13 и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ИЛ-13. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой TNX-650, лебрикизуаб или CAT354. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание ИЛ-13 с TNX-650, лебрикизуабом или CAT354.

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает RGM A. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает RGM A и дополнительно связывает мишень, выбранную из: RGM B, MAG, NgR, NogoA, OMGr и XCPG. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают RGM A и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает RGM A.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает CD38 и дополнительно связывает мишень, выбранную из CD20, TNFRSF5 (CD40) ALK1, ФНО, ФРЭС, ФРЭС-А, ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TNFSF2 (ФНО- α), рФРФ-3, рФРЭС-1, рФРЭС-2 и CD138. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CD38 и по меньшей мере 1, 2 или все 3 из указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD38. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает MOR202 или даратумумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание CD38 с MOR202 или даратумумабом.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB1 (рЭФР) и дополнительно связывает ErbB3. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB1. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой ERBITUX®. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB1 с ERBITUX®. Согласно еще одному варианту реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой связывающее ErbB1 антитело, выбранное из нимотузаба, залутумумаба, матузаба, панитумумаба, MEDX-214 и ABX-EGF. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB1 с антителом, выбранным из: нимотузаба, залутумумаба, матузаба, панитумумаба, MEDX-214 и ABX-EGF.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2, Ang2 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB2. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой HuMax-Her2™ или трастузумаб-DM1. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой трастузумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за ErbB2 связывание с трастузумабом.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и дополнительно связывает мишень, выбранную из ErbB3, рЭФР, рИФР-1, cMet, ФРЭС, RON (MST1R), DLL4, ПФР, CDCP1 (CD318), NRP1, TNFRSF10A (DR4) и TNFRSF10B (DR5). Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и дополнительно связывает мишень, выбранную из CD2, CD3, CD4 и NKG2D. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и ИФР-1, ИФР-2 или ИФР-1,2. Мультивалентные и мультиспецифические

композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ErbB2 и дополнительно связывают 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB2. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой HuMax-Her2™ или трастузумаб-DM1. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой трастузумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB2 с трастузумабом.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и дополнительно связывает ErbB3. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB2. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой HuMax-Her2™ или трастузумаб-DM1. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой трастузумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB2 с трастузумабом. Согласно еще одному варианту реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой связывающее ErbB2 антитело, выбранное из MDX-210 (Medarex), tgDCC-E1A (Targeted Genetics), MGH22 (MacroGenics) и пертузумаба (OMNITARG™). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB2 с антителом, выбранным из MDX-210, tgDCC-E1A, MGH22 и пертузумабом.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и HER2/3. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и HER2/3 одновременно.

Ингибиторы ангиогенеза, нацеленные на сигнальные пути фактора роста эндотелия сосудов (ФРЭС), согласно наблюдениям, обеспечивают наилучшие временные благоприятные терапевтические эффекты, с последующим восстановлением роста и прогрессированием опухоли ввиду предполагаемой способности ангиогенных опухолей адаптироваться к присутствию указанных ингибиторов. Без связи с теорией считается, что мультивалентные и мультиспецифические свойства MRD-содержащих антител, которые связывают ангиогенную мишень, обеспечивают указанным соединениям способность оказывать расширенные благоприятные антиангиогенные терапевтические эффекты по сравнению с наблюдаемыми, например, при терапии стандартными моноклональными антителами, за счет связывания нескольких отдельных связанных с ангиогенезом мишеней и разрушения таким образом механизмов устойчивости, которыми обладает ангиогенная опухоль.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рТцФР-А и дополнительно связывает мишень, выбранную из ФРЭС-А, ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc, рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TNFSF2 (ФНО-α), рФРФ-3, EFNα1, EFNα2, ANG1, ANG2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ИФР-1, ИФР-2, ИФР-1,2, ФРГ, TIE2, ТрФР-А, ПФР, ТрФР-В, CXCL12, KIT, ГКСФ, CXCR4, РТРС, TIE2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, рЭФР, cMET, Notch1, DLL4, EGFL7, интегрин α2β1, интегрин α4β1, интегрин α5β1, интегрин αvβ3, ТФР-β, MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAU, VCAM1 и рТцФР-В. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают рТцФР-А и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рТцФР-А. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой оларатумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание рТцФР-А с оларатумабом. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой MEDI-575. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание рТцФР-А с MEDI-575.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рТцФР-В и дополнительно связывает мишень, выбранную из ФРЭС-А, ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TNFSF2 (ФНО-α), рФРФ-3, EFNα1, EFNα2, ANG1, ANG2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ИФР-1, ИФР-2, ИФР-1,2, ФРГ, TIE2, ТрФР-А, ПФР, ТрФР-В, CXCL12, KIT, ГКСФ, CXCR4, РТРС, TIE2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, рЭФР, cMET, Notch1, DLL4, EGFL7, интегрин α2β1, интегрин α4β1, интегрин α5β1, интегрин αvβ3, ТФР-β, MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAU, VCAM1 и рТцФР-А. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают рТцФР-В и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рТцФР-В.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рФРЭС-1 и дополнительно связывает ангиогенную мишень, выбранную из ФРЭС (т.е. ФРЭС-А), ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TNFSF2 (ФНО- α), рФРФ-3, EFN α 1, EFN α 2, ANG1, ANG2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ФРГ, ТрФР-А, ПФР, ТрФР-В, CXCL12, KIT, ГКСФ, CXCR4, РТРС, TIE2, рецептора ФРЭС-2, рФРЭС-3, Notch1, DLL4, EGFL7, интегрин α 2 β 1, интегрин α 4 β 1, интегрин α 5 β 1, интегрин α v β 3, ТФР- β , MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAУ, VCAM1, рТцФР-А и рТцФР-В. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают рФРЭС-1 и дополнительно связывают 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рФРЭС-1. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой IMC-18F1. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание рФРЭС-1 с IMC-18F1.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рецептор ФРЭС-2 и дополнительно связывает мишень, выбранную из ФРЭС (т.е. ФРЭС-А), ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TNFSF2 (ФНО- α), рФРФ-3, NRP1, ROBO4, CD30, CD33, CD55 CD80, KIT, CXCL12, Notch1, EFN α 1, EFN α 2, ANG1, ANG2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ФРГ, ТрФР-А, ПФР, ТрФР-В, CXCL12, KIT, ГКСФ, CXCR4, РТРС, TIE2, рФРЭС-1, рФРЭС-3, Notch1, DLL4, EGFL7, интегрин α 2 β 1, интегрин α 4 β 1, интегрин α 5 β 1, интегрин α v β 3, ТФР- β , MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAУ, VCAM1, рТцФР-А и рТцФР-В. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают рецептор ФРЭС-2 и дополнительно связывают 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рецептор ФРЭС-2. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой IMC-1C11 или DC101. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание рецептора ФРЭС-2 с IMC-1C11 или DC101.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рецептор ФРЭС-2 и дополнительно связывает ANG2 или TIE2. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рецептор ФРЭС-2. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой IMC-1C11, DC101 или TTAC-0001. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание рецептора ФРЭС-2 с IMC-1C11, DC101 или TTAC-0001. Согласно дополнительным вариантам реализации связывающий TIE2 компонент содержит фрагмент ANG2, который связывает TIE2. Согласно конкретным вариантам реализации указанный связывающий TIE2 компонент содержит аминокислоты 283-449 ANG2 человека, раскрытого в референсной последовательности NCBI № NP_001138.1.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает DLL4 и дополнительно связывает мишень, выбранную из: рЭФР, ПФР, рФРЭС-1, рФРЭС-2 и ФРЭС. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают DLL4 и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой REGN421. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание DLL4 с REGN421.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывается с анти-ангиогенной мишенью и мишенью метастатического или инвазивного рака. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с ангиогенной мишенью и также связывает мишень метастатического или инвазивного рака, выбранную из CXCL12, CXCR4 (например, CXCR4b), CCR7 (например, CXCR7b), CD44 (например, CD44v3 и CD44v6), интегрин α 2 β 1, интегрин α 4 β 1, интегрин α 5 β 1, интегрин α v β 1, интегрин α v β 3, ТФР- β , интегрин α v β 5, интегрин α 9 β 1, интегрин α 6 β 4, интегрин α M β 2, PD-1, ФРГ, сMET, MMP2, MMP-7, MMP-9, MMP-12, ФРЭС-А, ФРЭС-В и ИФР-1. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ангиогенную мишень и также связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней метастатического или инвазивного рака, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФРЭС. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой бевацизумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ФРЭС с бевацизумабом.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с отдельными клеточными сигнальными путями. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с избыточными, перекрывающимися или пересекающимися сигнальными путями. Например, согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с сигнализацией PI3K/АКТ/mTOR (например, ErbB2, рЭФР, рИФР-1, Notch, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIС), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIb), рФРФ-3, рФРФ-4, GPCR и/или с-MET). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с сигнализацией через рецепторные тирозинкиназы Raf/MEK/MAPK (например, рФРЭС-1, рецептором ФРЭС-2, рФРЭС-3, рецептором ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIС), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIb), рФРФ-3, рФРФ-4, CD28, RET, сMET, рЭФР, ErbB2, Notch, Notch1, Notch3, Notch4, DLL1, DLL4, Jagged, Jagged1, Jagged2, и Jagged3. Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с сигнализацией SMAD (например, Notch, TGF β , TGF β R1, TGF β R2 и BMP). Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с сигнализацией JAK/STAT (например, рецептором интерферона- γ 1 (ИФН- γ -R1), ИФН- γ -R3, ИФН- γ , ИФН- α -R2, ИФН- α -R1, ИФН- α , ИФН- β , рецептором ИЛ-6a (GP130), ИЛ-6, рИЛ-12B1, ИЛ-12 и рЭФР). Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащее антитело, которое связывается с 2 или большим количеством мишеней, выбранных из WNT1, WNT2, WNT2b, WNT3, WNT3A, WNT4, WNT5A, WNT5B, WNT6, WNT7A, WNT7B, WNT8A, WNT8B, WNT9A, WNT9B, WNT10A, WNT10B, WNT11, WNT16, FZD1, FZD2, FZD4, FZD5, FZD6, FZD7, FZD8, Notch, Notch1, Notch3, Notch4, DLL1, DLL4, Jagged, Jagged1, Jagged2 и Jagged3. Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с сигнализацией NF κ B (например, BCR, TCR, рИЛ-1, ИЛ-1, FZD1, FZD2, FZD4, FZD5, FZD6, FZD7, FZD8, Notch, Notch1, Notch3, Notch4, DLL4, Jagged, Jagged1, Jagged2, Jagged3, TNFSF1 (ФНО- β ета, LTa), TNFRSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFRSF1B (TNFR2), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF6B (DcR3), TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), TNFRSF 7 (CD27), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFRSF 8 (CD30), TNFSF11 (RANKL), TNFRSF11A (RANK), TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF12 (TWEAKR), TNFSF13 (APRIL), TNFSF13B (BLYS), TNFRSF13B (TACI), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF15 (TL1A), TNFRSF17 (BCMA), TNFRSF19L (RELТ), TNFRSF19 (TROY), TNFRSF21 (DR6), TNFRSF25 (DR3), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFRSF5 (CD40), TNFSF2 (ФНО- α), TNFSF3 (LTb), TNFRSF3 (LTBR), TNFSF14 (LIGHT, лиганд HVEM), TNFRSF 14 (HVEM), TNFSF18 (лиганд GITR), TNFRSF 18 (GITR), TNFSF4 (лиганд OX40), TNFRSF 4 (OX40), TNSFF9 (лиганд 41BB), TNFRSF 9 (41BB), BMP, HPF и TFP- α). Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с пролиферацией клеток (например, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-7, ФРФ-4, ФРФ-10, ФРФ-18b, ФРФ-19, ФРФ-23, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIС), рФРФ-2 (например, рФРФ-IIIb и рФРФ-IIIС), рФРФ-3, рФРФ-4, TCR, TNFRSF5 (CD40), TLR1, TLR2, TLR3, TLR 4, TLR5 и TLR6). Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с опосредованной Toll-подобным рецептором сигнализацией (например, TLR1, TLR2, TLR3, TLR 4, TLR5 и TLR6).

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с В-клеточной сигнализацией (например, mIg, гетеродимерами Ig α /Ig β (CD79a/CD79b) (α / β), CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD27, CD30, CD46, CD80, CD86, ICOSL (B7-H2), HLA-DR (CD74), PD1, PDL1, TNFRSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFRSF1B (TNFR2), TNFRSF13B

(TACI), TNFRSF13C (BAFFR), TNFRSF 17 (BCMA), BTLA, TNFRSF5 (CD40), TLR4, TNFRSF14 (HVEM), рецептор Fc-γ-IB, pИЛ-4 и CRAC. Согласно конкретному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывается с CD19 и CD20. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает CD19, CD20 и CD22. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащие антитела) связывает 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 1 или большим количеством поверхностных маркеров В-клеток, выбранных из CD10, CD24, CD37, CD53, CD72, CD75, CD77, CD79a, CD79b, CD81, CD82, CD83, CD84 (SLAMF5) и CD85. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 1 или большим количеством поверхностных маркеров В-клеток, выбранных из CD10, CD24, CD37, CD53, CD72, CD75, CD77, CD79a, CD79b, CD81, CD82, CD83, CD84 (SLAMF5) и CD85. Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных поверхностных маркеров В-клеток.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD19 и мишень, выбранную из CD20, CD22, CD30, CD33, TNFRSF5 (CD40), CD52, CD74, CD80, CD138, pФЭС-1, pФЭС-2, pФЭП, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), ФНО, ИФП-1, ИФП-2, ИФП-1 и TNFSF11 (RANKL). Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD20 и мишень, выбранную из CD3, CD4 и NKG2D. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CD19 и также связывают по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD19. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой MDX-1342, SGN-CD19A, XMAB®5574, SGN-19A, ASG-5ME или MEDI-551. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание CD19 с MDX-1342, SGN-CD19A, XMAB®5574, SGN-19A, ASG-5ME или MEDI-551.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD22 и мишень, выбранную из CD19, CD20, CD23, CD30, CD33, TNFRSF5(CD40), CD52, CD74, CD80, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), ФЭС, ФНО и ИФП. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD22 и мишень, выбранную из CD3, CD4 и NKG2D. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CD22 и также связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD22. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой эпратуумаб или инотуумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание CD22 с эпратуумабом или инотуумабом.

Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой моксетумаб (CAT-8015, Cambridge Antibody Technologies). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание CD22 с моксетумабом.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает TNFRSF5 (CD40) и мишень, выбранную из BCMA, TNFSF11 (RANKL), pФЭС-1, pФЭС-2, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), CD22, CD30, CD38, CD56 (NCAM), CD70, CD80, CD138, ИЛ-6, ИФП-1, ИФП-2, ИФП-1,2, BlyS, APRIL и ИФП. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD40 и мишень, выбранную из CD3, CD4 и NKG2D. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CD40 и также связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD40. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой CP870893, дацетумаб, ANTOVA®, лукатумаб, XMAB®5485 или тенеликсимаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание CD40 с CP870893, дацетумабом, ANTOVA®, лукатумабом, XMAB®5485 или тенеликсимабом.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD33 и мишень, выбранную из FLT3, CD44, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), CD80, MGC, pФЭС-1, pФЭС-2, ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО и ФЭС. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают TNFRSF10B и также связывают по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD33. Со-

гласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой гемтузумаб или линтузумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание CD33 с гемтузумабом или линтузумабом.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с опосредованной антигенпрезентирующими клетками сигнализацией (например, mIg, гетеродимерами Ig α /Ig β (CD79a/CD79b) (α/β), CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD27, CD28, CD30, CD30L, TNFSF14 (LIGHT, лиганд HVEM), CD70, ICOS, ICOSL (B7-H2), CTLA4, PD-1, PDL1 (B7-H1), B7-H4, B7-H3, PDL2 (B7-DC), BTLA, CD46, CD80 (B7-1), CD86 (B7-2), HLA-DR, CD74, PD1, TNFRSF 4 (OX40), TNFRSF 9 (41BB), TNFSF4 (лиганд OX40), TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF 9 (41BB), TNFRSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFRSF1B (TNFR2), TNFRSF13B (TACI), TNFRSF13C (BAFFR), TNFRSF17 (BCMA), BTLA, TNFRSF 18 (GITR), MHC-1, TNFRSF5 (CD40), TLR4, TNFRSF 14 (HVEM), Fc- γ -RIIB, pIL-4 и CRAC). Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с опосредованной Т-клеточным рецептором сигнализацией (например, CD3, CD4, CD27, CD28, CD70, pIL-2, LFA-1, C4, ICOS, CTLA-4, CD45, CD80, CD86, PG-1, TIM1, TIM2, TIM3, TIM4, галектин 9, TNFRSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFRSF1B (TNFR2), TNFRSF21 (DR6), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF25 (DR3), TNFRSF 14 (HVEM), TNFSF18, TNFRSF 18 (GITR), TNFRSF4 (OX40), TNFSF4 (лиганд OX40), PD1, PDL1, CTLA4, TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF 9 (41BB), TNFSF14 (LIGHT, лиганд HVEM), TNFSF5 (лиганд CD40), BTLA и CRAC). Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывается с опухолевым антигеном клеточной поверхности и второй мишенью, которая связана с путем ускользания при устойчивости к химиотерапии. Согласно некоторым вариантам реализации указанный клеточной поверхности опухолевый антиген выбран из рЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, pФФФ, pФФЭС-1, pФФЭС-2, pФФЭС-3, pТрФФ-1, CD3, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD37, CD56, CD70, CD133, CD138, FOLR1, pИФФ-1, Cripto, SLC44A4 и GCC.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает Р-гликопротеин (кодируемый MDR1) и антиген клеточной поверхности. Согласно конкретным вариантам реализации указанный антиген клеточной поверхности представляет собой опухолевый антиген. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный опухолевый антиген клеточной поверхности выбран из рЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, pФФФ, pФФЭС-1, pФФЭС-2, pФФЭС-3, pТрФФ-1, CD3, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD37, CD56, CD70, CD133, CD138, FOLR1, pИФФ-1, Cripto, SLC44A4 и GCC. Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание CD30 с SGN-35 (брентуксимаб). Согласно дополнительным конкретным вариантам реализации MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB2 с трастузумабом.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает MRP (ассоциированный с множественной лекарственной устойчивостью белок) и антиген клеточной поверхности. Согласно конкретным вариантам реализации указанный антиген клеточной поверхности представляет собой опухолевый антиген. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный опухолевый антиген клеточной поверхности выбран из рЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, pФФФ, pФФЭС-1, pФФЭС-2, pФФЭС-3, pТрФФ-1, CD3, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD37, CD56, CD70, CD133, CD138, FOLR1, pИФФ-1, Cripto, SLC44A4 и GCC. Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание CD30 с SGN-35 (брентуксимаб). Согласно дополнительным конкретным вариантам реализации MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB2 с трастузумабом.

Согласно другим вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывается с терапевтической мишенью и второй мишенью, которая связана с путем ускользания при устойчивости к терапевтическому эффекту при нацеливании на терапевтическую мишень. Например, согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с рЭФР и мишенью, выбранной из MDR1, cMET, Notch, Notch1, Notch3, Notch4, DLL1, DLL4, Jagged, Jagged1, Jagged2 и Jagged3. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело нацелено на ErbB2 и ангиогенный фактор. Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело нацелено на ErbB2 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФФ-1). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело нацелено на ErbB2, и по меньшей мере один MRD нацелен на ангиогенный фактор и/или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФФ-1). Согласно

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело нацелено на ErbB2 и HER2/3. Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело может связываться с ErbB2 и HER2/3 одновременно. Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с HER2/3, функционально связано с MRD, который нацелен на ErbB2. Согласно дополнительным вариантам реализации по меньшей мере один ErbB2-связывающий MRD функционально связан с С-концом тяжелой цепи антитела, которое связывается с HER2/3. Согласно дополнительным вариантам реализации по меньшей мере один ErbB2-связывающий MRD функционально связан с N-концом тяжелой цепи антитела, которое связывается с HER2/3. Согласно дополнительным вариантам реализации по меньшей мере один ErbB2-связывающий MRD функционально связан с С-концом легкой цепи антитела, которое связывается с HER2/3. Согласно дополнительным вариантам реализации по меньшей мере один ErbB2-связывающий MRD функционально связан с N-концом легкой цепи антитела, которое связывается с HER2/3.

Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело нацелено на ErbB2, Ang2 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1). Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело включает антитело, которое нацелено на ErbB2, MRD, который нацелен на Ang2, и MRD, который нацелен на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1). Согласно некоторым вариантам реализации указанные нацеленные на Ang2 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) домены MRD присоединены к антителу против ErbB2 в одной локализации. Согласно некоторым вариантам реализации указанные нацеленные на Ang2 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) домены MRD присоединены к антителу против ErbB2 в разных локализациях. Согласно некоторым вариантам реализации указанные нацеленные на Ang2 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) домены MRD располагаются на легкой цепи антитела против ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации указанные нацеленные на Ang2 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) домены MRD располагаются на тяжелой цепи антитела против ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации указанный нацеленный на Ang2 MRD располагается на легкой цепи антитела против ErbB2, а нацеленный на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) MRD располагается на тяжелой цепи антитела против ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации указанный нацеленный на Ang2 MRD располагается на тяжелой цепи антитела против ErbB2, а нацеленный на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) MRD располагается на легкой цепи антитела против ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации указанный нацеленный на Ang2 MRD располагается на N-конце тяжелой цепи антитела против ErbB2, а нацеленный на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) MRD располагается на C-конце легкой цепи антитела против ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации указанный нацеленный на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) MRD располагается на N-конце тяжелой цепи антитела против ErbB2, а нацеленный на Ang2 MRD располагается на C-конце легкой цепи антитела против ErbB2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие антитело, которое нацелено на Ang2, MRD, который нацелен на ErbB2, и MRD, который нацелен на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1); и мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие антитело, которое нацелено на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1), MRD, который нацелен на ErbB2, и MRD, который нацелен на Ang2, также охвачены настоящим изобретением.

- 105 -

некоторым вариантам реализации указанные нацеленные на Ang2, HER2/3 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) домены MRD присоединены к одному и тому же концу антитела против ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации указанные нацеленные на Ang2, HER2/3 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) домены MRD присоединены к разным концам антитела против ErbB2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие: антитело, которое нацелено на HER2/3, MRD, который нацелен на ErbB2, MRD, который нацелен на Ang2, и MRD, который нацелен на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1); мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие антитело, которое нацелено на Ang2, MRD, который нацелен на ErbB2, MRD, который нацелен на HER2/3, и MRD, который нацелен на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1); и мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие антитело, которое нацелено на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1), MRD, который нацелен на ErbB2, MRD, который нацелен на HER2/3, и MRD, который нацелен на Ang2, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим Ang2 MRD, связывается и с ErbB2, и с Ang2 одновременно. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD, связывается и с ErbB2, и с рецептором инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) одновременно. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим HER2/3 MRD, связывается и с ErbB2, и с HER2/3 одновременно. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим Ang2 MRD, связывающим рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD и/или связывающим HER2/3 MRD, связывается с ErbB2, Ang2, рецептором инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) и/или HER2/3 одновременно. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим(и) Ang2, рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) и/или HER2/3 MRD проявляет АЗКЦ-активность. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим(и) Ang2, рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) и/или HER2/3 MRD, понижающе регулирует Akt-сигнализацию. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим Ang2 MRD, ингибирует связывание Ang2 с TIE2. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим(и) рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD, понижающе регулирует опосредованную рецептором инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) сигнализацию. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим(и) Ang2, рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) и/или HER2/3 MRD ингибирует пролиферацию клеток. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим(и) Ang2, рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) и/или HER2/3 MRD ингибирует рост опухоли.

Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело нацелено на ФРЭС и ангиогенный фактор. Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело нацелено на ФРЭС и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело нацелено на ФРЭС и по меньшей мере один MRD нацелено на ангиогенный фактор и/или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно одному варианту реализации антитело, которое связывается с тем же эпитопом ФРЭС, что и бевацизумаб, функционально связано по меньшей мере с одним MRD, который нацелен на ангиогенный фактор и/или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно дополнительному варианту реализации антитело, которое конкурентно ингибирует связывание бевацизумаба, функционально связано по меньшей мере с одним MRD, который нацелен на ангиогенный фактор и/или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело, которое содержит последовательности SEQ ID NO: 78-79, функционально связано по меньшей мере с одним MRD, который нацелен на ангиогенный фактор и/или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело бевацизумаб функционально связано по меньшей мере с одним MRD, который нацелен на ангиогенный фактор и/или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1).

Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ФРЭС, функционально связано с MRD, который нацелен на Ang2. Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ФРЭС, соединено со связывающим Ang2 MRD, которое связывается с тем же эпитопом Ang2, что и MRD, содержащий последовательность SEQ ID NO: 8. Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ФРЭС, соединено со связывающим Ang2 MRD, который конкурентно ингибирует MRD, содержащий последовательность SEQ ID NO: 8. Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ФРЭС, соединено с MRD, содержащим последователь-

рым вариантам реализации указанные ФНО-, Ang2-, ИЛ-6- и/или BlyS-связывающие домены MRD расположены на одной цепи антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанные ФНО-, Ang2-, ИЛ-6- и/или BlyS-связывающие домены MRD расположены на том же конце антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанные ФНО-, Ang2-, ИЛ-6- и/или BlyS-связывающие домены MRD расположены на разных цепях антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанные ФНО-, Ang2-, ИЛ-6- и/или BlyS-связывающие домены MRD расположены на разных концах антитела.

VI. Способы получения гибридов антитело-MRD.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции, предложенные в настоящем изобретении (например, MRD-содержащие антитела), и домены MRD могут быть получены любым известным в данной области техники способом синтеза антител, полипептидов, иммуноконъюгатов и цитотоксинов, в частности, посредством химического синтеза или техник рекомбинантной экспрессии. Преимущество мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) заключается в том, что они могут быть получены с применением известных в данной области техники протоколов получения антител. Молекулы гибрида антитело-MRD могут кодироваться полинуклеотидом, содержащим последовательность нуклеотидов. Соответственно, полинуклеотиды, описанные в настоящем документе, могут кодировать MRD, тяжелую цепь антитела, легкую цепь антитела, гибридный белок, содержащий тяжелую цепь антитела и по меньшей мере один MRD, и/или гибридный белок, содержащий легкую цепь антитела и по меньшей мере один MRD.

Соответственно, в настоящем изобретении предложены векторные конструкции, содержащие последовательность(и) полинуклеотидов, кодирующую(ие) мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), и клетка-хозяин, содержащая указанные векторные конструкции. Стандартные техники клонирования и трансформации могут использоваться для получения клеточных линий, экспрессирующих мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению.

Рекомбинантные экспрессионные векторы, содержащие последовательность(и) полинуклеотидов, кодирующую(ие) мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению, могут быть получены с применением хорошо известных техник. Экспрессионные векторы включают полинуклеотидную кодирующую последовательность, функционально связанную с подходящими транскрипционными или трансляционными регуляторными нуклеотидными последовательностями, например, происходящими из генов млекопитающих, микроорганизмов, вирусов или насекомых. Примеры регуляторных последовательностей, присутствующих в экспрессионных векторных конструкциях, включают транскрипционные промоторы, операторы, энхансеры, мРНК-сайты связывания рибосомы и/или другие подходящие последовательности, которые контролируют инициацию и терминацию транскрипции и трансляции. Нуклеотидные последовательности "функционально связаны", если регуляторная последовательность функционально относится к последовательности нуклеотидов соответствующего полипептида. Соответственно, промоторная последовательность функционально связана, например, с последовательностью тяжелой цепи антитела-MRD, если промоторная последовательность нуклеотидов контролирует транскрипцию соответствующей последовательности нуклеотидов.

Полинуклеотидная кодирующая последовательность в экспрессионном векторе может включать дополнительные гетерологичные последовательности, кодирующие такие полипептиды, как сигнальные пептиды, в природе не связанные с последовательностями тяжелых и/или легких цепей антитела. Например, последовательность нуклеотидов сигнального пептида (секреторная лидерная последовательность) может быть соединена внутри рамки с полипептидной последовательностью таким образом, чтобы MRD-содержащее антитело секретировалось в периплазматическое пространство или в среду. Сигнальный пептид, функциональный в заданных клетках-хозяевах, усиливает внеклеточную секрецию подходящего антитела. Сигнальный пептид может отщепляться от полипептида при секретировании антитела из клетки. Примеры последовательностей, кодирующих секреторные сигналы, которые могут быть включены в экспрессионные векторы, включают описанные, например, в патентах США №№ 5698435, 5698417 и 6204023.

Для экспрессирования кодирующей последовательности MRD-содержащего антитела могут использоваться разнообразные системы хозяев и экспрессионных векторов.

Клетки-хозяева, подходящие для настоящего изобретения, включают, не ограничиваясь перечисленными, микроорганизмы, такие как бактерии (например, *E. coli*, *B. subtilis*), трансформированные рекомбинантными экспрессионными векторами с бактериофаговой ДНК, плазмидной ДНК или космидной ДНК, содержащими кодирующие антитело последовательности; дрожжи (например, *Saccharomyces*, *Pichia*), трансформированные рекомбинантными дрожжевыми экспрессионными векторами, содержащими кодирующие антитело последовательности; системы клеток насекомых, инфицированные рекомбинантными вирусными экспрессионными векторами (например, бакуловирусными), содержащими кодирующие антитело последовательности; системы клеток растений, инфицированные рекомбинантными вирусными экспрессионными векторами (например, вирус мозаики цветной капусты, CaMV; вирус табачной мозаики, TMV) или трансформированные рекомбинантными плазмидными экспрессионными

векторами (например, Ti-плазмидой), содержащими MRD-содержащее кодирующее антитело последовательности. Согласно конкретным вариантам реализации системы клеток млекопитающих используют для получения мультивалентных и мультиспецифических композиций, предложенных в настоящем изобретении (например, MRD-содержащие антитела). В системах клеток млекопитающих, как правило, задействованы рекомбинантные экспрессионные конструкции, содержащие промоторы, происходящие из генома клеток млекопитающих (например, промотор металлотионеина) или вирусов млекопитающих (например, поздний аденовирусный промотор; промотор вируса осповакцины 7,5K). Примеры клеток-хозяев млекопитающих, подходящих для получения мультивалентных и мультиспецифических композиций, предложенных в настоящем изобретении, включают клетки CHO, клетки ВНК, клетки NSO, клетки SP2/0, клетки миеломы YO, клетки миеломы мыши P3X63, клетки PER, клетки PER.C6, клетки COS, клетки 293, клетки 3T3 и клетки гибридомы.

Векторы, содержащие полинуклеотиды, кодирующие предложенные в настоящем изобретении мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) или его участки или фрагменты, включают плазмидные векторы, одноцепочечные и двуцепочечные фаговые векторы, а также вирусные одноцепочечные и двуцепочечные РНК- или ДНК-векторы. Указанные векторы могут быть рутинным образом введены в клетки-хозяева с применением известных техник введения ДНК и РНК в клетки. Фаговые и вирусные векторы могут также быть введены в клетки-хозяева в форме упакованного или инкапсулированного вируса с применением известных техник инфицирования и трансдукции. Кроме того, вирусные векторы могут быть компетентными по репликации или, как вариант, дефективными по репликации. Как вариант, для получения белка также могут использоваться бесклеточные системы трансляции с применением РНК, происходящих из экспрессионных ДНК-конструкций согласно настоящему изобретению (см., например, опубликованные международные заявки WO 86/05807 и WO 89/01036 и патент США № 5122464).

Также в настоящем документе предложены способы получения MRD-содержащего антитела, включающие культивирование клетки-хозяина, содержащей один или большее количество полинуклеотидов или экспрессионных векторов, содержащих один или большее количество выделенных полинуклеотидов, в среде в условиях, обеспечивающих экспрессирование указанного одного или большего количества полинуклеотидов, при этом указанный(ые) один или большее количество полинуклеотидов кодирует(ют) один или большее количество полипептидов, образующих часть MRD-содержащего антитела; и выделение указанного MRD-содержащего антитела.

Прокариоты, подходящие в качестве клеток-хозяев при получении композиций, предложенных в настоящем изобретении (например, доменов MRD), включают грамотрицательные или грамположительные организмы, такие как *E. coli* и *B. subtilis*. Экспрессионные векторы для применения в прокариотических клетках-хозяевах обычно содержат один или большее количество фенотипически селективируемых маркерных генов (например, гены, кодирующие белки, придающие устойчивость к антибиотикам или поддерживающие автотрофный рост). Примеры экспрессионных векторов, подходящих для прокариотических хозяев, включают серии векторов rKK223-3 (Pharmacia, Упсала, Швеция), pGEM1 (Promega, Висконсин, США), pET (Novagen, Висконсин, США) и pRSET (Invitrogen, Калифорния, США) (см., например, Studier, J. Mol. Biol. 219:37 (1991) и Schoepfer, Gene 124:83 (1993)). Примеры промоторных последовательностей, часто используемых в экспрессионных векторах для прокариотических клеток-хозяев, включают T7, (Rosenberg et al., Gene 56: 125-135 (1987)), β -лактамазу (пенициллиназу), систему с лактозным промотором (Chang et al., Nature 275:615 (1978)); и Goeddel et al., Nature 281:544 (1979)), систему с триптофановым (trp) промотором (Goeddel et al., Nucl. Acids Res. 8:4057, (1980)) и tac-промотором (Sambrook et al., 1990, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2d Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.).

Согласно альтернативным вариантам реализации могут применяться системы эукариотических клеток-хозяев, в том числе дрожжевых клеток, трансформированных рекомбинантными дрожжевыми экспрессионными векторами, содержащими кодирующую последовательность MRD-содержащего антитела согласно настоящему изобретению, например экспрессионные системы, описанные в заявке на патент США № 60/344169 и в WO 03/056914 (способы получения гликопротеина, подобного гликопротеину человека в не принадлежащей человеку эукариотической клетке-хозяине) (содержание каждого из указанных источников полностью включено посредством ссылки). Примеры дрожжей, которые могут применяться для получения композиций, предложенных в настоящем изобретении, например домены MRD, включают дрожжи рода *Saccharomyces*, *Pichia*, *Actinomyces* и *Kluyveromyces*. Дрожжевые векторы, как правило, содержат последовательность начала репликации дрожжевой плазмиды 2 μ c, автономно реплицирующуюся последовательность (ARS), промоторную область, последовательности полиаденилирования, последовательности терминации транскрипции и ген селективируемого маркера. Примеры промоторных последовательностей в дрожжевых экспрессионных конструкциях включают промоторы металлотионеина, 3-фосфоглицераткиназы (Hitzeman et al., J. Biol. Chem. 255:2073, (1980)) и других гликолитических ферментов, таких как енoлаза, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, гексокиназа, пируватдекарбоксилаза, фосфофруктокиназа, глюкозо-6-фосфат-изомераза, 3-фосфоглицератмутаза, пируваткиназа, триозофосфатизомераза, фосфоглюкозоизомераза и глюкокиназа. Дополнительные подходящие век-

торы и промоторы для применения для экспрессии у дрожжей, а также протоколы трансформации дрожжей известны в данной области техники. См., например, Fleer et al., *Gene*, 107:285-195 (1991) и Hinnen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 75:1929 (1978).

Системы клеток-хозяев на основе культур клеток растений или насекомых также подходят для получения композиций, предложенных в настоящем изобретении. Такие системы клеток-хозяев включают, например, системы клеток насекомых, инфицированные рекомбинантными вирусными экспрессионными векторами (например, бакуловирусными), содержащими кодирующую последовательность MRD-содержащего антигена; системы клеток растений, инфицированных рекомбинантными вирусными экспрессионными векторами (например, вирусом мозаики цветной капусты, CaMV; вирусом табачной мозаики, TMV) или трансформированные рекомбинантными плазмидными экспрессионными векторами (например, Ti-плазмидой), содержащими кодирующую последовательность MRD-содержащего антигена, включая, но не ограничиваясь перечисленными, экспрессионные системы, описанные в патенте США № 6815184, WO 2004/057002, WO 2004/024927, заявках на патент США №№ 60/365769, 60/368047 и WO 2003/078614; содержание каждого из перечисленных источников полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно альтернативным вариантам реализации могут использоваться другие эукариотические системы клеток-хозяев, включая системы животных клеток, инфицированных рекомбинантными вирусными экспрессионными векторами (например, аденовирусом, вирусом осповакцины), в том числе клеточные линии, сконструированные таким образом, что они содержат несколько копий ДНК, кодирующей MRD-содержащее антигенное, либо стабильно амплифицирующейся (CHO/dhfr), либо нестабильно амплифицирующейся в двойных микрохромосомах (например, линии клеток мыши). Согласно одному варианту реализации вектор, содержащий полинуклеотид(ы), кодирующий(ие) MRD-содержащее антигенное согласно настоящему изобретению, является полицистронным.

Примеры клеток млекопитающих, подходящих для получения указанных композиций, включают клетки 293 (например, 293T и 293F), клетки CHO, клетки BHK, клетки NS0, клетки SP2/0, клетки миеломы YO, клетки миеломы мыши P3X63, клетки PER, клетки PER.C6 (Круцелл, Нидерланды) или клетки гибридомы, другие клетки млекопитающих. Дополнительные примеры клеток-хозяев млекопитающих, подходящих для реализации настоящего изобретения, включают, не ограничиваясь перечисленными, клетки VERY, Hela, COS, MDCK, 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 и T47D, CRL7030 и HsS78Bst. Некоторые примеры экспрессионных систем и способов отбора описаны в приведенных ниже и цитируемых в настоящем документе источниках: Borth et al., *Biotechnol. Bioeng.* 71(4):266-73 (2000-2001), Werner et al., *Arzneimittelforschung/Drug Res.* 48(8):870-80 (1998), Andersen and Krummen, *Curr. Op. Biotechnol.* 13:117-123 (2002), Chadd and Chamow, *Curr. Op. Biotechnol.* 12:188-194 (2001) и Giddings, *Curr. Op. Biotechnol.* 12: 450-454 (2001). Дополнительные примеры экспрессионных систем и способов отбора описаны у Logan & Shenk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:355-359 (1984) и Bittner et al., *Methods in Enzymol.* 153:51-544(1987)). Последовательности контроля транскрипции и трансляции для экспрессионных векторов клеток-хозяев млекопитающих часто происходят из вирусных геномов. Часто используемые промоторные последовательности и энхансерные последовательности в экспрессионных векторах для млекопитающих включают последовательности, происходящие из полиомавируса, аденовируса 2, вируса обезьян 40 (SV40) и цитомегаловируса человека (CMV). Примеры коммерчески доступных экспрессионных векторов для применения в клетках-хозяевах млекопитающих включают pCEP4 (Invitrogen®) и pcDNA3 (Invitrogen®).

Ряд систем селекции может применяться в экспрессионных векторных системах на основе клеток млекопитающих, включая, но не ограничиваясь перечисленными, гены тимидинкиназы вируса простого герпеса, гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы и аденинфосфорибозилтрансферазы (Lowy et al., *Cell* 22:817 (1980)), которые могут применяться в клетках tk, hgprt⁻ или aprt⁻ соответственно. Дополнительно в качестве основы для отбора может использоваться устойчивость к антиметаболитам, например, для dhfr, gpt, neo, hyg, trpB, hisD, ODC (орнитиндекарбоксилазной) и глутаминсинтазной системы.

Хорошо известные специалистам в данной области техники способы могут применяться для конструирования экспрессионных векторов, содержащих кодирующую последовательность MRD-содержащего антигена наряду с подходящими сигналами контроля транскрипции/трансляции. Указанные способы включают техники рекомбинантной ДНК *in vitro*, синтетические техники и *in vivo* рекомбинацию/генетическую рекомбинацию. См., например, техники, описанные у Maniatis et al., *MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL*, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y. (1989) и Ausubel et al., *CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY*, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1989).

Для экспрессирования кодирующей последовательности MRD-содержащего антигена могут использоваться разнообразные системы векторной экспрессии у хозяев. Может быть выбран штамм клеток-хозяев, который модулирует экспрессию встроенных последовательностей антигена или модифицирует и подвергает процессингу продукт гена антигена специфическим нужным образом. Такие модификации (например, гликозилирование) и процессинг (например, расщепление) белковых продуктов могут быть

важны для функции белка. Разные клетки-хозяева обладают характеристическими специфическими механизмами посттрансляционного процессинга и модификации белков и генных продуктов. Могут быть выбраны подходящие клеточные линии или системы хозяев для обеспечения корректной модификации и процессинга антитела или его экспрессируемого фрагмента. С этой целью могут использоваться эукариотические клетки-хозяева, обладающие клеточными механизмами для надлежащего процессинга первичного транскрипта, гликозилирования и фосфорилирования генного продукта.

Стабильная экспрессия, как правило, обеспечивает более воспроизводимые результаты, чем транзистентная экспрессия, а также лучше подходит для массового производства в больших масштабах; однако определение того, подходит ли транзистентная экспрессия лучше в конкретной ситуации, находится в пределах компетенции специалиста в данной области техники. Вместо применения экспрессионных векторов, которые содержат вирусные точки начала репликации, клетки-хозяева могут быть трансформированы соответствующими кодирующими нуклеиновыми кислотами, контролируемые подходящими элементами контроля экспрессии (например, промоторными, энхансерными последовательностями, терминаторами транскрипции, сайтами полиаденилирования и т.д.) и селективируемым маркером. После введения чужеродной ДНК сконструированные клетки могут культивироваться в течение 1-2 дней на обогащенной среде, а затем их переводят на селективную среду. Селективируемый маркер в рекомбинантной плазмиде придает устойчивость к селекции и позволяет отбирать клетки, которые стабильно интегрировали плазмиду в хромосомы, и культивировать их с получением очагов, которые, в свою очередь, могут быть клонированы и размножены для получения клеточных линий.

Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) экспрессируются на уровнях (в титрах), сопоставимых с уровнями антител. Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) экспрессируются на уровне, составляющем по меньшей мере приблизительно 10 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 20 мкг/мл, или по меньшей мере приблизительно 30 мкг/мл. Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) экспрессируются на уровне, составляющем по меньшей мере приблизительно 40 мкг/мл или по меньшей мере приблизительно 50 мкг/мл. Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) экспрессируются на уровне, составляющем по меньшей мере приблизительно 60 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 70 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 80 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 90 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 95 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 100 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 110 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 120 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 130 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 140 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 150 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 160 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 170 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 180 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 190 мкг/мл, или по меньшей мере приблизительно 200 мкг/мл. Уровни экспрессии молекулы антитела могут быть повышены с помощью амплификации вектора и применения рекомбинантных способов и инструментов, известных в данной области техники, включая стратегии реконструкции хроматина для усиления экспрессии трансгена.

Настоящее изобретение также направлено на способ модификации профиля гликозилирования MRD-содержащего антитела, продуцируемого клеткой-хозяином, включающий экспрессию в указанной клетке-хозяине нуклеиновой кислоты, кодирующей MRD-содержащее антитело, и нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид с гликозилтрансферазной активностью, или вектора, содержащего такие нуклеиновые кислоты. Гены с гликозилтрансферазной активностью включают $\beta(1,4)$ -N-ацетилглюкозаминилтрансферазу III (GnTIII), α -маннозидазу II (ManII), $\beta(1,4)$ -галактозилтрансферазу (GalT), $\beta(1,2)$ -N-ацетилглюкозаминилтрансферазу I (GnTI) и $\beta(1,2)$ -N-ацетилглюкозаминилтрансферазу II (GnTII). Согласно одному варианту реализации в клетке-хозяине экспрессируется комбинация генов с гликозилтрансферазной активностью (например, GnTIII и ManII). Аналогичным образом, указанный способ также охватывает экспрессию одного или большего количества полинуклеотидов, кодирующих MRD-содержащее антитело, в клетке-хозяине, в которой ген гликозилтрансферазы был разрушен или иным образом дезактивирован (например, в клетке-хозяине, в которой активность гена, кодирующего $\alpha 1$ -6-кор-фукозилтрансферазу, была нокаутирована). Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело может быть получено в клетке-хозяине, которая также экспрессирует полинуклеотид, кодирующий полипептид, обладающий GnTIII-активностью, для модификации паттерна гликозилирования. Согласно конкретному варианту реализации указанный полипептид, обладающий GnTIII-активностью, представляет собой гибридный полипептид, содержащий домен локализации в комплексе Гольджи полипептидов-резидентов аппарата Гольджи. Согласно еще одному варианту реализации экспрессия MRD-содержащего антитела в клетке-хозяине, которая экспрессирует полинуклеотид, кодирующий полипептид, обладающий GnTIII-активностью, приводит к получению MRD-содержащего антитела с повышенным сродством к связыванию Fc-рецептора и повышенной эффекторной функцией. Соответственно, согласно одному варианту реализации настоящее изобретение относится к клетке-

хозяину, содержащей (а) выделенную нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность, кодирующую полипептид, обладающий GnTIII-активностью; и (б) выделенный полинуклеотид, кодирующий MRD-содержащее антитело согласно настоящему изобретению, например гибридное, приматизированное или гуманизированное антитело. Согласно еще одному варианту реализации указанный полипептид, обладающий активностью GnTIII, представляет собой гибридный полипептид, содержащий каталитический домен GnTIII, и домен локализации в комплексе Гольджи представляет собой домен локализации маннозидазы II. Способы получения таких гибридных полипептидов и их применения для получения антител с усиленными эффекторными функциями раскрыты в предварительной заявке на патент США 60/495142 и опубликованной заявке на патент США № 2004/0241817, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) с измененным гликозилированием, продуцируемые клетками-хозяевами согласно настоящему изобретению, как правило, демонстрируют повышенное сродство к связыванию Fc-рецептора и/или повышенную эффекторную функцию в результате модификации клетки-хозяина (например, за счет экспрессии гена гликозилтрансферазы). Повышенное сродство к связыванию Fc-рецептора может представлять собой повышенное связывание с активирующим рецептором Fcγ, таким как рецептор FcγRIIIa. Повышенная эффекторная функция может представлять собой что-либо одно или более из следующего: усиленная антителозависимая клеточная цитотоксичность, усиленный антителозависимый клеточный фагоцитоз (АЗКФ), увеличенная секреция цитокинов, увеличенное опосредованное иммунными комплексами поглощение антигена антигенпрезентирующими клетками, повышенная опосредованная Fc клеточная цитотоксичность, повышенное связывание с NK-клетками, повышенное связывание с макрофагами, повышенное связывание с полиморфноядерными клетками (ПЯК), повышенное связывание с моноцитами, повышенное перекрестное связывание связанных с мишенью антител, усиленная прямая сигнализация, индуцирующая апоптоз, усиленное созревание дендритных клеток и усиленное примирование Т-клеток.

После того как мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) согласно настоящему изобретению получена при помощи рекомбинантной экспрессии, она может быть очищена любым способом, известным в данной области техники для очищения молекул иммуноглобулина, например, с помощью хроматографии (например, ионообменной, аффинной, в частности, за счет сродства к специфическому антигену после хроматографии с белком А и хроматографии на эксклюзионной колонке), центрифугирования, дифференциальной растворимости или с помощью любой другой стандартной техники очищения белков. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции согласно настоящему изобретению или их фрагменты, необязательно, соединены с гетерологичными полипептидными последовательностями, описанными в настоящем документе или известными в данной области техники, облегчающими очищение. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции или их фрагменты, необязательно, соединены с облегчающими очищение гетерологичными полипептидными последовательностями, описанными в настоящем документе или известными в данной области техники. В частности, предполагается, что лиганды (например, антитела и другие аффинные матрицы) доменов MRD или других компонентов мультивалентных и мультиспецифических композиций могут применяться в аффинных колонках для аффинной очистки, и, необязательно, домены MRD или другие компоненты указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, связываемые указанными лигандами, удаляют из композиции перед получением готовых мультивалентных и мультиспецифических композиций с применением техник, известных в данной области техники.

VII. Применение гибридов антитело-MRD.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), описанные в настоящем документе, подходят для разнообразных применений, включая, но не ограничиваясь указанным, способы терапевтического лечения, например лечения раковых заболеваний. Согласно определенным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) подходят для ингибирования роста опухоли, уменьшения неоваскуляризации, уменьшения ангиогенеза, индуцирования дифференцировки, уменьшения объема опухоли и/или снижения онкогенности опухоли. Способы применения могут быть представлены способами для применения *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*. Терапевтические средства для лечения рака и их дозировки, способы введения и рекомендации по применению известны в данной области техники и были описаны в таких литературных источниках, как "Настольный справочник врача" (Physician's Desk Reference, "PDR"). В "PDR" описаны дозировки агентов, которые использовались в лечении различных раковых заболеваний. Терапевтически эффективные режимы дозирования и дозировки указанных выше химиотерапевтических лекарственных средств зависят от конкретного ракового заболевания, лечение которого проводят, степени заболевания и других факторов, которые известны практикующему специалисту в данной области техники, и могут быть определены практикующим врачом. Содержание справочника "PDR" явным образом и полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. В издании "Настольного справочника врача" (PDR) 2006 г. описан механизм действия, предпочтительные дозы для

лечения и схемы дозирования для талидомида (стр. 979-983), велкейда (VELCADE®) (стр. 2102-2106) и мелфалана (стр. 976-979).

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят в составы, дозируют и вводят соответствующим надлежащей клинической практике образом. Факторы, учитываемые в данном контексте, включают конкретное расстройство, лечение которого проводят, конкретного млекопитающего, лечение которого проводят, клинического состояния индивидуального пациента, причины расстройства, участка доставки агента, способа введения, расписания введения и других факторов, известных практикующим медицинским специалистам. Диапазоны доз для введения мультивалентных и мультиспецифических композиций, предложенных в настоящем изобретении, достаточно велики для обеспечения требуемого эффекта, при котором происходит облегчение симптомов заболевания, опосредованного целевой молекулой. Дозировка не должна быть слишком большой, чтобы не вызывать нежелательных побочных явлений, таких как синдром повышенной вязкости, отек легких, застойная сердечная недостаточность и т.п. Обычно дозировка варьирует в зависимости от возраста, состояния, пола и степени заболевания пациента и может быть определена специалистом в данной области техники. Дозировка может корректироваться индивидуально лечащим врачом в случае какого-либо осложнения.

Получение фармакологической композиции, которая содержит растворенные или диспергированные активные ингредиенты, хорошо известно в данной области техники. Как правило, такие композиции получают в виде стерильных подходящих для инъекций жидких растворов либо суспензий, водных или неводных. Однако могут также быть получены твердые формы, подходящие для растворения или суспендирования в жидкости перед использованием. Состав может также быть эмульгирован. Таким образом, содержащая антитело-MRD композиция может принимать форму растворов, суспензий, таблеток, капсул, составов для пролонгированного высвобождения или порошков или других композиционных форм.

Согласно некоторым вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении (например, мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела)), вводят в состав, обеспечивающий или оптимизирующий распределение *in vivo*. Например, гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) исключает многие высокогидрофильные соединения, и, при необходимости, указанные композиции получают в таком виде, чтобы усиливать их проникновение через ГЭБ, например, введением в липосомы. Способы получения липосом описаны, например, в патентах США №№ 4522811; 5374548 и 5399331. Липосомы могут содержать один или большее количество фрагментов, избирательно транспортируемых в специфические клетки или органы, и, соответственно, улучшающих направленную доставку лекарственного средства (см., например, *Ranade Clin. Pharmacol.* 29:685 (1989)).

Мультивалентные и мультиспецифические связывающие свойства предложенных в настоящем изобретении композиций обеспечивают рациональный дизайн терапевтических средств, предпочтительно направленных на конкретные представляющие интерес анатомические области *in vivo*. Например, согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело локализуется в области воспаления или локализации опухоли за счет связывания антитело-комбинирующего сайта с молекулой, характеризующейся повышенной экспрессией в области локализации воспаления или опухоли соответственно. Согласно конкретным вариантам реализации средство антитело-комбинирующего сайта в MRD-содержащем антителе к связыванию мишени *in vivo* по меньшей мере в 3, по меньшей мере в 10, по меньшей мере в 30 или по меньшей мере в 100 раз выше средства одной или большего количества мишеней MRD, связываемых указанным MRD-содержащим антителом (например, поверхностного антигена, который в иных случаях не рассматривается в качестве приемлемой мишени антитела, ввиду, например, неспецифической поверхностной экспрессии или низкого сродства к связыванию мишени, ассоциированного со стандартными технологиями антител).

Терапевтические составы согласно настоящему изобретению, необязательно, содержат фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы (*Remington's Pharmaceutical Sciences* 18th edition, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18042 [1990]). Приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают буферы, антиоксиданты, в том числе аскорбиновую кислоту, метионин, витамин Е, матабисульфит натрия, консерванты, изотонирующие агенты, стабилизаторы, комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок) и/или хелатирующие агенты, такие как ЭДТК. Физиологически переносимые носители хорошо известны в данной области техники. Аналогичным образом, мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению могут включать фармацевтически приемлемые соли их компонентов. Фармацевтически приемлемые соли включают соли присоединения кислоты (образованные свободными аминокетонами полипептида), образующиеся при реакции с неорганическими кислотами, например, соляной или фосфорной кислотами, или такими органическими кислотами, как уксусная, винная, миндальная и т.п. Соли, образованные свободными карбоксильными группами, могут также быть получены из неорганических оснований, например гидроксида натрия, калия, аммония, кальция или железа, и таких органических основа-

ний, как изопропиламин, триметиламин, 2-этиламиноэтанол, гистидин, прокаин и т.п.

Подходящие вспомогательные вещества включают, например, воду, солевой раствор, декстрозу, глицерин, этанол или т.п. и их комбинации. Дополнительные вспомогательные вещества, подходящие для получения составов с композициями, предложенными в настоящем изобретении, включают агент, который может действовать как (1) наполнитель, (2) усилитель растворимости и (3) стабилизатор. Такие вспомогательные вещества включают, не ограничиваясь перечисленными, многоатомные сахарные спирты (перечисленные выше); аминокислоты, такие как аланин, глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин, лизин, орнитин, лейцин, 2-фенилаланин, глутаминовая кислота, треонин и т.д.; органические сахара или сахарные спирты, такие как сахароза, лактоза, лактит, трегалоза, стахиоза, манноза, сорбоза, ксилоза, рибоза, рибит, миоинозитола, миоинозит, галактоза, галактит, глицерин, циклиты (например, инозит), полиэтиленгликоль; серосодержащие восстанавливающие агенты, такие как мочевины, глутатион, тиоктовая кислота, тиогликолят натрия, тиоглицерин, α -монотиоглицерин и натрия тиосульфат; низкомолекулярные белки, такие как сывороточный альбумин человека, бычий сывороточный альбумин, желатин или другие иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; моносахариды (например, ксилоза, манноза, фруктоза, глюкоза; дисахариды (например, лактоза, мальтоза, сахароза); трисахариды, такие как раффиноза; и полисахариды, такие как декстрин или декстран.

Буферы используют для контроля показателей pH, с поддержанием их в диапазоне, оптимизирующем терапевтическую эффективность, в частности, в том случае, когда стабильность зависит от pH. Согласно некоторым вариантам реализации буферы присутствуют в концентрациях, варьирующих от приблизительно 1 до приблизительно 200 мМ, от приблизительно 1 до приблизительно 100 мМ или от приблизительно 1 до приблизительно 50 мМ. Подходящие буферные агенты для применения в составах согласно настоящему изобретению включают органические и неорганические кислоты и их соли. Например, цитрат, фосфат, сукцинат, тартрат, фумарат, глюконат, оксалат, лактат, ацетат. Кроме того, буферы могут содержать соли гистидина и триметиламина, такие как Tris.

Стабилизаторы, называемые модификаторами тоничности, присутствуют для корректировки или поддержания тоничности жидкой композиции. При использовании с большими заряженными биомолекулами, такими как белки и антитела, стабилизаторы взаимодействуют с заряженными группами боковых цепей аминокислот, уменьшая потенциал для внутримолекулярных и межмолекулярных взаимодействий. Примеры модифицирующих тоничность агентов, подходящих для получения составов согласно настоящему изобретению, включают многоатомные сахарные спирты, предпочтительно трехатомные или более многоатомные сахарные спирты, такие как глицерин, эритрит, арабит, ксилит, сорбит и маннит.

Жидкие композиции могут также содержать жидкие фазы помимо воды и вместо воды. Примерами таких дополнительных жидких фаз являются глицерин, растительные масла, такие как хлопковое масло, органические сложные эфиры, такие как этилолеат, и водно-масляные эмульсии.

Согласно одному варианту реализации терапевтическая композиция содержит мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело) в количестве, составляющем по меньшей мере 0,1% гибридного MRD-содержащего антитела от общей массы терапевтической композиции. Процент по массе представляет собой отношение массы MRD-содержащего антитела и общей массы композиции. Соответственно, например, 0,1% по массе составляет 0,1 г MRD-содержащего антитела на 100 г композиции.

Составы для парентерального введения включают стерильные водные или неводные растворы, суспензии и эмульсии. Примерами неводных растворителей являются пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло, и подходящие для инъекций органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Водные носители включают воду, спиртовые/водные растворы, эмульсии или суспензии, включая солевые и забуференные среды. В соответствии с настоящим изобретением фармацевтически приемлемые носители включают, не ограничиваясь перечисленными, 0,01-0,1М и предпочтительно 0,05М фосфатный буфер или 0,8% солевой раствор. Другие распространенные основы для парентерального применения включают растворы фосфата натрия, декстрозный раствор Рингера, декстрозы и хлорида натрия, лактатный раствор Рингера или жирные масла. Основы для внутривенного применения включают восполняющие жидкость и питательные вещества агенты, восполняющие электролиты агенты, например, на основе декстрозного раствора Рингера, и т.п. Могут также присутствовать консерванты и другие добавки, такие как, например, противомикробные средства, антиоксиданты, хелатирующие агенты и инертные газы и т.п.

В частности, фармацевтические композиции, подходящие для инъекций, как правило, включают стерильные водные растворы (в случае водорастворимых композиций) или дисперсии и стерильные порошки для экстенпорального приготовления стерильных подходящих для инъекций растворов или дисперсий. В таких случаях композиция должна быть стерильной и должна быть текучей в достаточной степени, чтобы позволять легкое введение через шприц. Она должна быть стабильной в условиях производства и хранения и предпочтительно защищена от загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленг-

ликоль, и т.п.) и их подходящие смеси. Нужная текучесть может поддерживаться, например, за счет применения покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем применения поверхностно-активных веществ. Подходящие составы для применения в терапевтических способах, раскрытых в настоящем документе, описаны в руководстве "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., 16th ed. (1980).

Предотвращение действия микроорганизмов может достигаться за счет различных антибактериальных и антимикотических агентов, например парабенов, хлорбутана, фенола, аскорбиновой кислоты, тимеросала и т.п., во многих случаях предпочтительно включение изотонических агентов, например сахаров, полиспиртов, таких как маннит, сорбит, или хлорида натрия в композицию. Пролонгированная абсорбция подходящих для инъекций композиций может обеспечиваться путем включения в композицию агента, задерживающего абсорбцию, например моностеарата алюминия и желатина.

Согласно одному варианту реализации фармацевтические составы с композициями согласно настоящему изобретению содержат соединение, способное снижать вязкость водного состава, содержащего мультивалентные и моновалентные мультиспецифические композиции. Согласно одному варианту реализации указанная мультиспецифическая композиция представляет собой MRD-содержащее антитело. Согласно дополнительному варианту реализации указанное соединение, способное снижать вязкость состава, выбрано из группы, состоящей из метионина, аргинина (например, сукцината аргинина), дипептида аргинина, трипептида аргинина, полиаргинина, гомоаргинина, N-гидрокси-L-нораргинина, метилового сложного эфира нитроаргинина, аргининамида, аргинин метилового сложного эфира, этилового сложного эфира аргинина, лизина, лизинамида, метилового сложного эфира лизина, гистидина, метилового сложного эфира гистидина, гистамина, аланина, аланинамида, метилового сложного эфира аланина, 2-амино-3-гуанидинопропионовой кислоты, гуанидина, орнитина, агматина, гуанидиномасляной кислоты, цитруллина, путресцина, кадаверина, спермидина, спермина и мочевины. Согласно некоторым вариантам реализации указанное соединение присутствует в составе в концентрации, составляющей по меньшей мере 10 мМ, по меньшей мере 20 мМ, по меньшей мере 50 мМ или по меньшей мере 100 мМ. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное соединение присутствует в составе в концентрации, составляющей от приблизительно 10 мМ до 1 М. Согласно дополнительным вариантам реализации общая концентрация белка, присутствующего в составе, составляет по меньшей мере 50 мг/мл, по меньшей мере 75 мг/мл, по меньшей мере 100 мг/мл, по меньшей мере 150 мг/мл, по меньшей мере 200 мг/мл или по меньшей мере 250 мг/мл.

Схема дозирования и эффективные количества для терапевтического и профилактического применения, т.е. "режим дозирования", зависит от разнообразных факторов, включающих причину, стадию и тяжесть заболевания или расстройства, состояние здоровья, физический статус, возраст млекопитающего, лечение которого проводят, а также область и способ доставки MRD-содержащего антитела. Терапевтическая эффективность и токсичность комплекса и структуры могут быть определены с помощью стандартных фармацевтических, фармакологических и токсикологических процедур в клеточных культурах или у экспериментальных животных. Данные, полученные в результате указанных процедур, могут использоваться также и при определении диапазона дозирования для применения у человека. Кроме того, с применением известных процедур может быть легко определен терапевтический индекс (т.е. отношение дозы, терапевтически эффективной у 50% популяции, к дозе, летальной для 50% популяции (ED_{50}/LD_{50})). Дозировка предпочтительно находится в пределах диапазона концентраций, который включает ED_{50} с незначительной токсичностью или без токсичности, и может варьировать в пределах указанного диапазона в зависимости от используемой лекарственной формы, чувствительности пациента и способа введения.

Режим дозирования должен также учитывать известные в данной области техники фармакокинетические параметры, такие как скорость абсорбции, биодоступность, метаболизм и клиренс лекарственного средства (см., например, Hidalgo-Aragones, J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 58:611-617 (1996); Groning et al., Pharmazie 51:337-341 (1996); Fotherby Contraception 54:59-69 (1996); и Johnson et al., J. Pharm. Sci. 84:1144-1146 (1995)). В данной области техники хорошо известны способы определения лечащим врачом режима дозирования для каждого получающего лечение субъекта. Кроме того, композиции, содержащие мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), могут вводиться однократно или многократно в зависимости от необходимых и переносимых субъектом дозировки и частоты введения. Продолжительность профилактического и терапевтического лечения варьирует в зависимости от конкретного заболевания или состояния, лечение которого проводят. Для некоторых заболеваний подходит кратковременное лечение, тогда как другие требуют длительной терапии в течение продолжительного времени. При лечении дополнительным терапевтическим агентом MRD-содержащее антитело может вводиться последовательно или одновременно с указанным дополнительным терапевтическим агентом.

Терапевтически эффективные количества MRD-содержащего антитела согласно настоящему изобретению варьируют в зависимости, например, от мишеней MRD-содержащего антитела и активности конъюгированных цитотоксических агентов, охваченных различными вариантами реализации настоящего изобретения. Таким образом, например, терапевтически эффективная доза мультивалентной и моно-

валентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), которое "впитывает" растворимый лиганд, такой как ФНО- α , предположительно будет выше, чем терапевтически эффективная доза мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), которое перенаправляет эффекторную функцию Т-клеток на мишень на гематологическом злокачественном новообразовании. Аналогичным образом, терапевтически эффективные количества мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), содержащих майтансиноидный цитотоксический агент, предположительно будут ниже, чем дозировка мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), содержащего менее активное химиотерапевтическое средство, такое как таксол, или аналогичной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, которая не содержит цитотоксического агента.

В соответствии с одним вариантом реализации терапевтически эффективная доза мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) представляет собой количество, выбранное из приблизительно 0,00001 - приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 0,00001 - приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 0,00001 - приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 0,0001 - приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 0,0001 - приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 0,0001 - приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 0,001 - приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 0,001 - приблизительно 10 мг/кг и приблизительно 0,001 - приблизительно 5 мг/кг массы тела пациента, в виде одной или нескольких доз, вводимых ежедневно, на протяжении одного или нескольких дней.

В соответствии с другим вариантом реализации терапевтически эффективное количество мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) представляет собой количество, достаточное для обеспечения при введении в физиологически переносимом составе достигается концентрации в плазме, составляющей от приблизительно 0,1 мкг на 1 мл до приблизительно 100 мкг/мл, от приблизительно 1 мкг/мл до приблизительно 5 мкг/мл и обычно приблизительно 5 мкг/мл. Иными словами, согласно еще одному варианту реализации дозировка может варьировать от приблизительно 0,1 до приблизительно 300 мг/кг, от приблизительно 0,2 до приблизительно 200 мг/кг, от приблизительно 0,5 до приблизительно 20 мг/кг в виде одной или нескольких доз, вводимых ежедневно на протяжении одного или нескольких дней.

Согласно некоторым вариантам реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело) вводят в дозе от приблизительно 1 до приблизительно 50 мг/кг, от приблизительно 1 до приблизительно 25 мг/кг, от приблизительно 1 до приблизительно 20 мг/кг, от приблизительно 1 до приблизительно 15 мг/кг, от приблизительно 1 до приблизительно 10 мг/кг или от приблизительно 1 до приблизительно 5 мг/кг.

Согласно дополнительным вариантам реализации дозы указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) вводят примерно один раз сутки, примерно два раза в неделю, примерно еженедельно, примерно один раз в две недели или примерно каждые три недели. Согласно некоторым вариантам реализации сначала вводят более высокую нагрузочную дозу мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, а затем вводят более низкую поддерживающую дозу.

Согласно дополнительным вариантам реализации терапевтические композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) в количестве, составляющем по меньшей мере 0,1% антитела по массе от общей массы терапевтической композиции. Процент по массе представляет собой отношение массы антитела к общей массе композиции. Соответственно, например, 0,1% по массе составляет 0,1 г антитела-MRD на 100 г композиции. Согласно некоторым вариантам реализации терапевтическая композиция, содержащая мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию, содержит от приблизительно 10 мкг антитела на 1 мл до приблизительно 100 мг антитела на 1 мл в качестве активного ингредиента в объеме композиции. Согласно дополнительным вариантам реализации терапевтическая композиция, содержащая мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию, содержит от приблизительно 1 до приблизительно 10 мг/мл (т.е. приблизительно 0,1-1% по массе) антитела в качестве активного ингредиента в объеме композиции.

Как показывают примеры в настоящем документе, мультивалентная и мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) может иметь профиль ФК, аналогичный соответствующему антителу. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации антитело-MRD вводят в соответствии с дозирующими концентрациями и режимом дозирования, совпадающими с дозировками и режимом для антитела-компонента молекулы антитела-MRD по отдельности (например, для коммерческого антитела или его так называемого "биосимиляра" или "биопревосходного" средства). Также мультивалентная и мультиспецифическая композиция может иметь профиль ФК, отличный от профиля соответствующего антитела. Например, согласно вариантам реализации, где мультивалентные и мультиспецифические композиции перенаправляют Т-клеточный ответ и/или включают цитотоксический агент, дозирующая концентрация предположительно будет меньше, чем для соответствующего антитела. В указанных случаях терапевтически эффективные дозирующие концентрации и режимы дозирования для

указанных композиций могут быть определены рутинным образом с применением параметров и критериев, известных в данной области техники.

В составы с мультивалентными и мультиспецифическими композициями (например, MRD-содержащими антителами) не должны, но могут, необязательно, входить один или большее количество агентов, в настоящее время применяемых для предотвращения или лечения расстройства, представляющего интерес. Эффективное количество таких других агентов зависит от количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, присутствующей в составе, типа расстройства или лечения, и других факторов, обсуждаемых выше.

Согласно обсуждению выше, подходящая дозировка указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) зависит от типа заболевания, лечение которого проводится, согласно описанию выше, тяжести и течения заболевания, предшествующей терапии, клинической истории пациента и выбора лечащего врача. Мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию подходящим образом вводят пациенту однократно или периодически на протяжении курса лечения. Предпочтительно мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят путем внутривенной инфузии или подкожных инъекций. Согласно некоторым вариантам реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят парентерально путем инъектирования или постепенной инфузии в течение периода времени. Хотя оценка целевой молекулы в организме может, как правило, быть проведена при системном введении и, соответственно, чаще всего лечение проводят путем внутривенного введения терапевтических композиций, предусмотрены и другие ткани и способы доставки, если существует вероятность, что целевая ткань содержит целевую молекулу. Соответственно, мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция может вводиться внутривенно, внутривенно, внутримышечно, подкожно, внутривенным путем, чрескожно и может доставляться периферически. Мультивалентные и мультиспецифические композиции могут также доставляться в виде аэрозоля в дыхательные пути и легкие. Согласно некоторым вариантам реализации молекулу антитела-MRD вводят путем внутривенной инфузии. Согласно некоторым вариантам реализации указанную молекулу антитела-MRD вводят путем подкожной инъекции.

Терапевтические композиции, содержащие мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), могут вводиться внутривенно обычным способом, например путем инъекции единицы дозы. Термин "единица дозы" в отношении терапевтической композиции согласно настоящему изобретению относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичной дозированной формы для пациента, причем каждая единица содержит заданное рассчитанное количество активного материала для получения требуемого терапевтического эффекта, связанное с требуемым разбавителем, т.е. носителем или основой. Согласно конкретному варианту реализации указанные терапевтические композиции, содержащие моноклональное антитело человека или полипептид, вводят подкожно.

Композиции, предложенные в настоящем изобретении, вводят совместимым с лекарственной формой способом в терапевтически эффективном количестве. Количество для введения зависит от пациента, лечение которого проводят, способности систем пациента утилизировать активный ингредиент и уровня требуемого терапевтического эффекта. Точные количества активного ингредиента, которые необходимо ввести, зависят от решения практикующего врача и являются специфическими для каждого индивидуума. Однако подходящие диапазоны доз для системного применения раскрыты в настоящем документе и зависят от способа введения. Подходящие режимы введения также варьируют, однако характерным является начальное введение с введением последующих повторных доз с одним или несколькими часовыми интервалами путем последовательных инъекций или другого способа введения. Как вариант, предусмотрена непрерывная внутривенная инфузия, достаточная для поддержания концентраций в крови в диапазонах, определенных для терапии *in vivo*.

Согласно другим вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, включающий введение терапевтически эффективного количества или профилактически эффективного количества молекулы антитела-MRD нуждающемуся в этом пациенту. Согласно некоторым вариантам реализации указанное заболевание, расстройство или повреждение представляет собой раковое заболевание. Согласно другим вариантам реализации указанное заболевание, расстройство или повреждение представляет собой заболевание или расстройство иммунной системы, такое как воспаление или аутоиммунное заболевание. Ожидается, что мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) обладают по меньшей мере такой же терапевтической эффективностью, как и антитело, содержащееся в MRD-антителе, содержащем антитело, при его отдельном введении. Соответственно, предполагается, что мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) могут вводиться пациенту для лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, при котором антитело, содержащееся в MRD-содержащем антителе, или антитело, которое функционирует таким же образом, что и антитело, содержащееся в MRD-содержащем антителе, демонстрирует приемлемо согласованную благоприятную активность при лечении или предотвращении таких заболеваний,

расстройства или повреждения. Указанная благоприятная активность может быть продемонстрирована *in vitro*, в модели на животных *in vivo* или в клинических испытаниях у человека. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят пациенту для лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, при котором антитело-компонент MRD-содержащего антитела или антитело, которое функционирует таким же образом, что и антитело, содержащееся в MRD-содержащем антителе, демонстрирует терапевтическую или профилактическую эффективность *in vitro* или в модели на животных. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят пациенту для лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, при которых антитело-компонент MRD-содержащего антитела или антитело, которое функционирует таким же образом, что и антитело, содержащееся в MRD-содержащем антителе, демонстрирует терапевтическую или профилактическую эффективность у человека. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят пациенту для лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, применение при таком лечении или предотвращении которого антитело-компонент указанного MRD-содержащего антитела или антитело, которое функционирует таким же образом, что и антитело, содержащееся в MRD-содержащем антителе, было одобрено регулирующим органом.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с другим терапевтическим средством для лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, при котором антитело-компонент указанного MRD-содержащего антитела или антитело, которое функционирует таким же образом, что и антитело, содержащееся в MRD-антителе, в комбинации с указанным терапевтическим средством или другим терапевтическим средством, которое функционирует таким же образом, что и терапевтическое средство в указанной комбинации, демонстрирует терапевтическую или профилактическую эффективность *in vitro* или в модели на животных. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с другим терапевтическим средством для лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, при котором антитело-компонент указанного MRD-содержащего антитела или антитело, которое функционирует таким же образом, что и антитело, содержащееся в MRD-антителе, в комбинации с указанным терапевтическим средством или другим терапевтическим средством, которое функционирует таким же образом, что и терапевтическое средство в указанной комбинации, демонстрирует терапевтическую или профилактическую эффективность у человека. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело, вводят в комбинации с другим терапевтическим средством для лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, применение при таком лечении или предотвращении которого антитело-компонента MRD-содержащего антитела или антитела, которое функционирует таким же образом, что и антитело, содержащееся в MRD-антителе, в комбинации с указанным терапевтическим средством или другим терапевтическим средством, которое функционирует таким же образом, что и терапевтическое средство в указанной комбинации, было одобрено регулирующим органом. Введение MRD-содержащего антитела в комбинации более чем с одним терапевтическим средством согласно описанию выше также охвачено настоящим изобретением.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое способствует апоптозу, ингибирует апоптоз, способствует выживаемости клеток, ингибирует выживаемость клеток, способствует старению пораженных заболеванием или аберрантных клеток, ингибирует старение клеток, способствует пролиферации клеток, ингибирует пролиферацию клеток, способствует клеточной дифференцировке, ингибирует клеточную дифференцировку, способствует активации клеток, ингибирует активацию клеток, способствует клеточному метаболизму, ингибирует клеточный метаболизм, способствует адгезии клеток, ингибирует адгезию клеток, способствует прохождению клеточного цикла или делению клеток, ингибирует прохождение клеточного цикла или деление клеток, способствует репликации или репарации ДНК, ингибирует репликацию или репарацию ДНК, способствует транскрипции или трансляции или ингибирует транскрипцию или трансляцию.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое способствует апоптозу или старению пораженных заболеванием или аберрантных клеток. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое действует как агонист, действует как антагонист или уменьшает активность рЭФР, ErbB2, cMET, ФНО- α , ТФР- β , интегрин $\alpha v \beta 3$, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8, TLR9, TNFR1, TNFRSF10A (TRAIL R1 DR4), TNFRSF10B (TRAIL R2 DR5), ФНО, TRAIL, ИФН- β , MYC, Ras, BCR, ABL, INK, CKN2, CHK1, CDK1, RAC1, MEK, MOS, mTOR, AKT, NF κ B, Ikk, IAP1, IAP2, XIAP, b-катенина, сурвивина, HDAC, HSP70, HSP90, 20S-протеасомы, топоизомеразы 1, MDM2, E2F или E2F1.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое ингибирует выживаемость клеток. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое действует как антагонист или уменьшает активность ФРЭС, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рИФР-1, ИФР-1, ИФР-2, ТцФР-А, ТцФР-В, ТцФР-СС, ТцФР-С, ТцФР-Д, рТцФР-А, рТцФР-В, трансформирующего ростового фактора α (ТРФ- α),

ТРФ-В3, фосфоинозитид-3-киназы (PI3K), TNFSF13B (BLYS), TNFRSF13C (BAFFR), JNK, ядерный фактор κ -В (NFKB), SIP, интегрин α v β 3 или сурвивина.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует пролиферацию клеток. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое действует как антагонист или уменьшает активность ФРЭС, рФРЭС-, рЭФР, ErbB2, NFKB, HIF, MUC1, MUC2 или HDAC.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует адгезию клеток. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое ингибирует или уменьшает активность MMP1, MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLA2, интегрин α v β 1, интегрин α v β 3, интегрин α v β 5, ТФР- β , EPCAM, интегрин α 1 β 1, интегрин α 2 β 1, интегрин α 4 β 1, интегрин α 2 β 1, интегрин α 5 β 1, интегрин α 9 β 1, интегрин α 6 β 4, интегрин α M β 2, РЭА, L1, Mel-CAM или HIF1. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое ингибирует или уменьшает активность интегрин α v β 3, интегрин α v β 5 или интегрин α 5 β 1. Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с MEDI-522 (VITAXIN, Abegrin; MedImmune), ATN-161 (Attenuon), EMD 121974 (Merck KGaA), CNTO 95 (Cenotocor) или велосиксимабом (M200, Protein Design Labs).

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует активацию клеток. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое способствует, ингибирует или уменьшает активность CD80, CD86, MHC, PDL2 (B7-DC), B7-H1, B7-H2 (ICOSL), B7-H3, B7-H4, CD28, CTLA4, TCR, PD1, CD80 или ICOS.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует прохождение клеточного цикла, деление клеток или митоз. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое действует как антагонист или уменьшает активность PI3K, SMO, Ptch, HH, SHH, plk1, plk2, plk3, plk4, aurora A, aurora B, aurora C, CDK1, CDK2, CDK4, CHK1, CHK2, GSK3B, PAK, NEK2A, ROCK 2, MDM2, ЭФР (KSP), 20S-протеасомы, HDAC или сурвивина.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует репликацию или репарацию ДНК. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое действует как антагонист или уменьшает активность BRCA1, CHK1, CHK2, E2F, E2FL, MDM2, MDM4 или PARP1.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует транскрипцию или трансляцию. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое действует как антагонист или уменьшает активность рИФР-1, ИФР-1, ИФР-2, рТцФР-А, рТцФР-В, ТцФР-А, ТцФР-В, ТцФР-СС, ТцФР-С, ТцФР-Д, KIT, MYC, CD28, CDK4, CDK6, mTOR, MDM2, HDAC, E2F, E2F1 или HIF1.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует миграцию, инвазивность или метастазирование. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое ингибирует или уменьшает активность: c-MET, RON, CXCR4, PI3K, AKT, MMP2, FN1, CATHD, AMF, интегрин α v β 1, интегрин α v β 3, интегрин α v β 5, ТФР-бета, интегрин α 1 β 1, интегрин α 2 β 1, интегрин α 4 β 1, интегрин α 2 β 1, интегрин α 5 β 1, интегрин α 9 β 1, интегрин α 6 β 4, интегрин α M β 2 или HIF1.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует клеточный метаболизм. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое ингибирует или уменьшает активность ErbB2, рЭФР, рИФР-1, ИФР-1, ИФР-2, ТРФ- α , ICOS, PI3K, рФРЭС-1, рФРЭС-2, mTOR, HIF1 или HDAC.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором одной или большего количества протеинкиназ. Согласно одному варианту реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень MRD-содержащего антитела (например, посредством одного или большего количества доменов MRD либо антитела MRD-содержащего антитела). Согласно альтернативному варианту реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует протеинкиназу, которая не является мишенью MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует одну протеинкиназу. Согласно другим вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует более одной протеинкиназы.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором (например, малой молекулой, антителом и т.д.) протеинкиназы, выбранным из рЭФР, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIС), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-

2-IIIb), pPФФ-3, ErbB2, pPЭC-1, pPЭC-2, pPЭC-3, Tie-2, рецептор ТцФР, pТцФР-B, RON и c-Met. Согласно другим вариантам реализации указанный ингибитор ингибирует протеинкиназу, которая не является мишенью MRD-содержащего антитела. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором одной или большего количества протеинкиназ, выбранных из pЭФР, рецептора ФРФ-1 (pPФФ-1) (например, pPФФ-1-IIIc), pPФФ-2 (например, pPФФ-2-IIIa, pPФФ-2-IIIb и pPФФ-2-IIIb), pPФФ-3, ErbB2, pPЭC-1, pPЭC-2, pPЭC-3, Tie-2, pТцФР-A, pТцФР-B, FIT3, ALK, RET, Kit, raf, p38, RON, c-Met, PI3K, ERK, FAK, AKT, SYK, JAK1, JAK2, JAK3, TYK2, S1P, FAK, PTK7, PKD1, PKA, PKC, PKG, PRKDC, Pim, CDK, plk, p38MAPK, SRC, ABL, FGR, FYN, HCK, LCK, LYN, YES, EPH4, BMK1, ERK5, mTOR, CHK1, CHK2, CSNK1G1, CSNK1G2, CSNK1G3, GSK3, BTK, INK, киназы Aurora, киназы Aurora A, киназы Aurora B и киназы Aurora C.

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы, выбранным из иматиниба мезилата (например, GLEEVEC™), гефитиниба (например, IRESSA™, Astra Zeneca), вандетаниба (например, ZACTIMA™, Astra Zeneca), эрлотиниба (например, TARCEVA™, Genentech/OSI), сунитиниба (например, SUTENT™, Pfizer), лапатаниба (GSK) и сорафениба (например, NEXAVAR™, Bayer).

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы, выбранным из: нилотиниба (например, AMN107, Novartis), дазатиниба (например, BMS 354825, BMS), ABT-869, ботсутиниба (например, SKI-606, Wyeth), цедирамиба, рецентиба, кальпастина, AEE788 (Novartis), AZD0530 (AstraZeneca) Exel 7646/Exel 0999 (Exelixis), кабозантиниба (например, XL184; Exelixis), XL880/GSK1363089 (Exelixis/GSK), ARQ-197 (Arqule и Daiichi Sankyo), Inno-406 (Innovive), SGS523 (SGX), PF-2341066 (Pfizer), CI-1033 (Pfizer), мотесаниба (например, AMG-706, Amgen), AG-013736 (Axitinib), AMG-705 (Amgen), пераптаниба (OSI/Pfizer), лестауртиниба, руксолитиниба, SB1518, CYT387, LY3009104, TG101348 JANEX-1, тофацитиниба (Pfizer), INCB18424, LFM-A13, пазопаниба (например, GW786034B, GlaxoSmithKline), GW-572016, EKB-569 (Wyeth-Ayerst), ваталаниба (например, PTK787/ZK), AZD2171, MK-0457 (VX-680, Merck), PHA 739358 (Nerviano), мубритиниба (Takeda), E7080 (Eisai), фостаматиниба (Rigel/AstraZeneca), SGX523, SNS-032 (Sunesis), XL143, SNS-314 (Sunesis), SU6668 (Pfizer), AV-951 (AVEO), AV-412 (AVEO), тивизаниба (AVEO), PX-866 (Oncothyreon), канертиниба (CI-1033), NSC 109555, VRX0466617, UCN-01, ингибитора CHK2 II, EXEL-9844, XL844, CBP501, PF-004777736, дибромхимериалдизина, Go6976, AEG3482, цедирамиба (например, RECENTIN™, AstraZeneca), семаксаниба (SU5416), SU5616, CGP-53716, мастиниба и ZD6474 (AstraZeneca).

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы pPФФ, выбранным из сунитиниба, SU5402, PD173074, TKI258 (Novartis), BIBF 1120 (Boehringer Ingelheim), бриваниба (BMS-582,664), E7080 (Eisai) и TSU-68 (Taiho).

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы JAK1, JAK2, JAK3, или SYK. Согласно дополнительному варианту реализации указанный ингибитор протеинкиназы выбран из лестауртиниба, тофацитиниба, руксолитиниба, SB1518, CYT387, LY3009104, TG101348, фостаматиниба, BAY 61-3606 и сунитиниба.

Согласно одному варианту реализации ErbB2 (HER2) связывающее MRD-содержащее антитело (например, MRD-связывающее антитело, которое связывает ErbB2 посредством одного или большего количества доменов MRD либо антитела MRD-содержащего антитела) вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы ErbB2. Согласно другому специфическому варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела трастузумаба вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы ErbB2. Согласно одному варианту реализации связывающее ErbB2 MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с лапатинибом. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела трастузумаба вводят в комбинации с лапатинибом. Согласно одному варианту реализации связывающее ErbB2 MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с сунитинибом. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела трастузумаба вводят в комбинации с сунитинибом. Согласно конкретному варианту реализации связывающее ErbB2 MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с нератинибом. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела трастузумаба вводят в комбинации с нератинибом. Согласно одному варианту реализации связывающее ErbB2 MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с лапатинибом. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела трастузумаба вводят в комбинации с лапатинибом. Согласно дополнительному варианту реализации связывающее ErbB2 (HER2) MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы, выбранным из канертиниба (GW-572016), AV-412 (AVEO), тивозаниба (AVEO), вандетаниба (например, ZACTIMA™, AstraZeneca), AEE788 (Novartis), Exel 7646/Exel 0999 (Exelixis), CI-1033 (Pfizer) и EKB-569 (Wyeth-Ayerst). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела трастузумаба вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы, выбранным из канертиниба (GW-572016), AV-412 (AVEO), тивозаниба (AVEO), вандетаниба (например, ZACTIMA™, AstraZeneca), AEE788 (Novartis), Exel 7646/Exel 0999 (Exelixis), CI-1033 (Pfizer), PX-866 (Oncothyreon) и EKB-569 (Wyeth-Ayerst).

Согласно еще одному варианту реализации связывающее рЭФР MRD-содержащее антитело (например, MRD-связывающее антитело, которое связывает рЭФР посредством одного или большего количества доменов MRD либо антитела MRD-содержащего антитела) вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы рЭФР. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела цетуксимаба вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы рЭФР. Согласно одному варианту реализации связывающее рЭФР MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с гефитинибом (например, IRESSA™, AstraZeneca). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела цетуксимаба вводят в комбинации с гефитинибом (например, IRESSA™, AstraZeneca). Согласно одному варианту реализации связывающее рЭФР MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с эрлотинибом (например, TARCEVA™, Genentech/OSI). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела цетуксимаба вводят в комбинации с эрлотинибом (например, TARCEVA™, Genentech/OSI). Согласно одному варианту реализации связывающее рЭФР MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с лапатинибом. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела цетуксимаба вводят в комбинации с лапатинибом. Согласно одному варианту реализации связывающее рЭФР MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с сорафенибом (например, NEXAVAR™, Bayer). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела цетуксимаба вводят в комбинации с сорафенибом (например, NEXAVAR™, Bayer). Согласно еще одному варианту реализации связывающее рЭФР MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы, выбранным из канертиниба (GW-572016), ZD6474, AV-412 (AVEO), тивозаниба (AVEO), вандетаниба (ZACTIMA, AstraZeneca), AEE788 (Novartis), Exel 7646/Exel 0999 (Exelixis), CI-1033 (Pfizer) и EKB-569 (Wyeth-Ayerst). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела цетуксимаба вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы, выбранным из канертиниба (GW-572016), ZD6474, AV-412 (AVEO), тивозаниба (AVEO), вандетаниба (ZACTIMA, AstraZeneca), AEE788 (Novartis), Exel 7646/Exel 0999 (Exelixis), CI-1033 (Pfizer), PX-866 (Oncothyreon) и EKB-569 (Wyeth-Ayerst).

Согласно одному варианту реализации связывающее ФРЭС-А, рФРЭС-1 или рецептор ФРЭС-2 MRD-содержащее антитело (например, MRD-связывающее антитело, которое связывает рФРЭС-1 посредством одного или большего количества доменов MRD либо антитела MRD-содержащего антитела) вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы VEGFR1, рецептора ФРЭС-2 или рФРЭС-3. Согласно одному варианту реализации связывающее ФРЭС-А, рФРЭС-1 или рФРЭС-2 MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с: сунитинибом, сорафенибом, пазопанибом (например, GW786034B), AZD2171, ваталанибом, ZD6474, AMG-706 или AC013736.

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором протеасомы. Согласно конкретному варианту реализации указанный ингибитор представляет собой бортезомиб (например, VELCADE™). Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанный ингибитор представляет собой PR-171 (Proteolix).

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором HDAC.

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором mTOR.

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором NFκB.

Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего ФРЭС-А или рФРЭС MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рака толстой и прямой кишки путем введения терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему раком толстой и прямой кишки. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рака молочной железы путем введения терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему раком молочной железы. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения немелкоклеточного рака легких путем введения терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему немелкоклеточным раком легких. Согласно другим вариантам реализации терапевтически эффективные количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, вводят пациенту для лечения метастатического рака толстой и прямой кишки, метастатического рака молочной железы, метастатического рака поджелудочной железы или метастатического немелкоклеточного рака легких. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания путем введения те-

терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему почечноклеточной карциномой, мультиформной глиобластомой, раком яичника, раком предстательной железы, раком печени или раком поджелудочной железы.

Комбинированная терапия и комбинированные композиции, включающие мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению и другое терапевтическое средство, также охвачены настоящим изобретением, как и способы лечения с применением указанных композиций. Согласно другим вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, вводят отдельно или в комбинации с одним или большим количеством дополнительных терапевтических агентов. Комбинации могут вводиться либо одновременно, например, в виде смеси; по отдельности, но одновременно или параллельно; или последовательно. Сюда включены системы, в которых указанные комбинированные агенты вводят совместно в виде терапевтической смеси, а также процедуры, в ходе которых комбинированные агенты вводят по отдельности, но одновременно, например, через отдельные внутривенные катетеры одному индивидууму. Введение "в комбинации" также включает раздельное введение, когда один из терапевтических соединений или агентов вводят первым, а затем вводят второй. Соответственно, согласно одному варианту реализации связывающее ФРЭС-А или рФРЭС MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с 5-фторурацилом, карбоплатином, паклитакселом или интерфероном- α . Согласно еще одному варианту реализации бевацизумаб, содержащий по меньшей мере один MRD, вводят в комбинации с 5-фторурацилом, карбоплатином, паклитакселом или интерфероном- α .

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего ФРЭС-А или рФРЭС MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества ранибизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего ErbB2 (HER2) MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно различным вариантам реализации связывающие ErbB2 мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациентам, которые, как было показано, ранее отвечали на другую терапию на основе ErbB2 (например, Герцептин, химиотерапию и/или лучевую терапию), или пациентам, которые, согласно прогнозу, будут отвечать на другую терапию на основе ErbB2. Согласно другим вариантам реализации указанные связывающие ErbB2 мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациентам, которые ранее не отвечали на другую терапию на основе ErbB2, или пациентам, которые, согласно прогнозу, не будут отвечать на другую терапию на основе ErbB2.

Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества трастузумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рака молочной железы путем введения терапевтически эффективного количества трастузумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему раком молочной железы. Согласно другим вариантам реализации терапевтически эффективные количества трастузумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, вводят пациенту для лечения метастатического рака молочной железы.

Согласно еще одному варианту реализации связывающее ErbB2 (HER2) MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с циклофосфамидом, паклитакселом, доцетакселом, карбоплатином, антрациклином или майтансиноидом. Согласно конкретному варианту реализации трастузумаб, содержащий по меньшей мере один MRD, вводят в комбинации с циклофосфамидом, паклитакселом, доцетакселом, карбоплатином, антрациклином или майтансиноидом.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего CD20 MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения гематологического рака, включающий введение терапевтически эффективного количества ритуксимаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения CD20-положительной НХЛ путем введения терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему CD20-положительной НХЛ. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен спо-

соб лечения CD20-положительного ХЛЛ путем введения терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему CD20-положительным ХЛЛ.

Согласно другим вариантам реализации терапевтически эффективное количество связывающего CD20 MRD-содержащего антитела вводят в комбинации с: флударабином, циклофосфамидом, FC (флударабин и циклофосфамид), программой химиотерапии на основе антрациклина (например, CHOP (циклофосфамид, адриамицин, винкристин и преднизон)) или химиотерапией CVP (циклофосфамид, преднизон и винкристин). Согласно конкретному варианту реализации терапевтически эффективное количество бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, вводят в комбинации с флударабином, циклофосфамидом, FC (флударабин и циклофосфамид), программой химиотерапии на основе антрациклина (например, CHOP (циклофосфамид, адриамицин, винкристин и преднизон)) или химиотерапией CVP (циклофосфамид, преднизон, и винкристин).

Любые гибриды антитело-MRD содержащих антител и/или доменов MRD, которые связывают CD20, могут применяться в соответствии со способами лечения расстройства, связанного с CD20, или расстройства, лечение которого может проводиться путем направленного воздействия на клетки, экспрессирующие CD20 (например, гематологических раковых заболеваний и аутоиммунных заболеваний). Согласно некоторым вариантам реализации антитело-компонент гибрида антитело-MRD выбран из ритуксимаба, окрелизумаба, GA101 и PF-5230895.

В настоящем изобретении также предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает мишень, выбранную из CD20, TNFRSF5 (CD40), CD45RB, CD52, CD200, CCR2, рецептора фактора активации тромбоцитов (PAFR), pIL-6, TNFRSF1A, VLA4, колониестимулирующего фактора 2 (CSF2), TNFSF5 (лиганд CD40), TLR2, TLR4, GPR44, FASL, TREM1, ИЛ-1, ИЛ-1 β , pIL-1N, тканевого фактора, MIF, MIP2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, ФНО, TNFSF12 (TWEAK), ЛПС, CXCL13, ФРЭС, ИФН- α , ИФН- γ , ГМКСФ, ФРФ, ТФР- β , C5 и CCR3. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно конкретным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела, которое связывает ФНО и ANG2.

Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела, которое связывает ИЛ-1, ИЛ-12 и ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-1, ИЛ-12, ФНО и ANG2.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО и ANG2, мишень, выбранную из CD20, TNFRSF5 (CD40), CD45RB, CD52, CD200, CCR2, PAFR, pIL-6, TNFRSF1A, VLA4, CSF2, TNFSF5 (лиганд CD40), TLR2, TLR4, GPR44, FASL, TREM1, ИЛ-1, ИЛ-1 β , pIL-1N, тканевого фактора, MIF, MIP2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, ФНО, TNFSF12 (TWEAK), ЛПС, CXCL13, ФРЭС, ИФН- α , ИФН- γ , ГМКСФ, ФРФ, ТФР- β , C5 и CCR3. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела. Согласно конкретному варианту реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает мишень, выбранную из CD1C, CD3, CD4, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD28, CD37, CD38, CD45RB, CD52, CD69, CD72, CD74, CD75, CD79A, CD79B, CD80, CD81, CD83, CD86, CD200, pIL-2A, pIL-12, pIL-6, VLA4, HLA-DRA, HLA-A, интегрин α -2 (ITGA2), интегрин α -3 (ITGA3), колониестимулирующего фактора -2 (CSF2), TLR2, TLR4, GPR44, TREM1, TIE2, ФНО, FASL, тканевого фактора, MIF, MIP2, ИЛ-1, ИЛ-1-бета, pIL-1N, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, TNFRSF1A, TNFRSF5 (CD40), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF7 (CD27), TNFRSF8 (CD30), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFSF12 (TWEAK), TNFSF13B (BLyS), ANG2, ICOSL (B7-H2), MS4A1, ИФН- α , ИФН- β 1, ИФН- γ , TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), PAFR, ингибина альфа (INH α), ингибина β -A (INH β A), дипептидилпептидазы-4 (DPP4), 5'-нуклеотидазы (NT5E), CTLA4, B7.1/B7.2, ЛПС, ФРЭС, ГМКСФ, ФРФ, C5, CXCL13, CXCR4, CCR2 и CCR3. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят для лечения ревматоидного артрита, и мультивалентные и мультиспецифические композиции связывают мишень, выбранную из: CD19, CD20, CD45RB, CD52CD200, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-

15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, ФНО, TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF13B (BLyS), ФРЭС, VLA4, ИФН- γ , ИФН- α , ГМКСФ, ФРФ, C5, CXCL13 и CCR2. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят для лечения системной красной волчанки, и мультивалентные и мультиспецифические композиции связывают ИФН- α и TNFSF13B (BLyS). Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят для лечения рассеянного склероза, и мультивалентные и мультиспецифические композиции связывают мишень, выбранную из ANG2, ИЛ-1, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-23, CXCL13, ФНО, TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), ФРЭС, VLA4, ФНО, CD45RB, CD200, ИФН- γ , ГМ-КСФ, ФРФ, C5, CD52, TNFRSF1A, TNFRSF5 (CD40), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF7 (CD27), TNFRSF8 (CD30), TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFRSF21 (DR6), TNFSF12 (TWEAK), TNFSF13B (BLyS), ANG2, AGE (S100 A, амфотерин), ICOSL (B7-H2), MS4A 1, ИФН- α , ИФН- β 1, ИФН- γ , TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), MCP1, CCR2 и CXCL13. Мультивалентные и мультиспецифические композиции, которые связывают по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего CD20 MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего CD20 MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества ритуксимаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ревматоидного артрита, включающий введение терапевтически эффективного количества ритуксимаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения системной красной волчанки, включающий введение терапевтически эффективного количества ритуксимаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рассеянного склероза, включающий введение терапевтически эффективного количества ритуксимаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно дополнительному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества окрелизумаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ревматоидного артрита, включающий введение терапевтически эффективного количества окрелизумаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения системной красной волчанки, включающий введение терапевтически эффективного количества окрелизумаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рассеянного склероза, включающий введение терапевтически эффективного количества окрелизумаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества PF5230895-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ревматоидного артрита, включающий введение терапевтически эффективного количества PF5230895-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения системной красной волчанки, включающий введение терапевтически эффективного количества PF5230895-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рассеянного склероза, включающий введение терапевтически эффективного количества PF5230895-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела, которое связывает CD20. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает CD20 и мишень, выбранную из ФНО, TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF1A, CD45, RB, CD52, CD200, CCR2, PAFR, pИЛ-6, VLA4, CSF2, RAGE, TLR2, TLR4, GPR44, FASL, TREM1, TIE2, тканевого фактора, MIF, MIP2, ЛПС, ИЛ-1, ИЛ-1- β , pИЛ-1N, ИЛ-6, pИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-

18, ИЛ-23, CXCL13, ФРЭС, ИФН- α , ИФН- γ , ГМКСФ, ФРФ, C5 и CCR3. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CD20 и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD20. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой ритуксимаб, окрелизумаб, GA101 или PF-5230895. Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела, которое связывает CD20. Согласно конкретному варианту реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает CD20 и мишень, выбранную из CD1C, CD3, CD4, CD19, CD21, CD22, CD23, CD24, CD28, CD37, CD38, CD45RB, CD52, CD69, CD72, CD74, CD75, CD79A, CD79B, CD80, CD81, CD83, CD86, CD200, pИЛ-2A, pИЛ-12, pИЛ-6, VLA4, HLA-DRA, HLA-A, ITGA2, ITGA3, CSF2, TLR2, TLR4, GPR44, TREM1, TIE2, ФНО, FASL, тканевого фактора, MIF, MIP2, ИЛ-1, ИЛ-1 β , pИЛ-1N, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, TIE2, TNFRSF1A, TNFRSF5 (CD40), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF7 (CD27), TNFRSF8 (CD30), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFSF12 (TWEAK), TNFSF13B (BLyS), ANG2, ICOSL (B7-H2), MS4A1, ИФН- α , ИФН- β 1, ИФН- γ , TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), PAFR, INHA, INHBA, DPP4, NT5E, CTLA4, B7.1/B7.2, ЛПС, ФРЭС, ГМКСФ, ФРФ, C5, CXCL13, CXCR4, CCR2 и CCR3. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят для лечения ревматоидного артрита, и указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции связывают CD20 и мишень, выбранную из: CD19, CD45RB, CD52, CD200, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, ФНО, TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), ФРЭС, VLA4, ИФН- γ , интерферон- α , ГМКСФ, ФРФ, C5, CXCL13 и CCR2.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят для лечения рассеянного склероза, и мультивалентные и мультиспецифические композиции связывают CD20 и мишень, выбранную из ANG2, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-23, CXCL13, TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), ФРЭС, VLA4, ФНО, CD45RB, CD200, ИФН- γ , ГМКСФ, ФРФ, C5, CD52, TIE2, TNFRSF1A, TNFRSF5 (CD40), TNFRSF 6 (Fas, CD95), TNFRSF 7 (CD27), TNFRSF 8 (CD30), TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFRSF21 (DR6), TNFSF12 (TWEAK), TNFSF13B (BLyS), ICOSL (B7-H2), MS4A 1, ИФН- α , ИФН- β 1, ИФН- γ , TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), CCR2 и CXCL13. Мультивалентные и мультиспецифические композиции, которые связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела выбран из ритуксимаб, окрелизумаб, GA101 и PF-5230895.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества ФНО-связывающего MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно различным вариантам реализации ФНО-связывающие мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациентам, которые, как было показано, ранее отвечали на другую терапию на основе ФНО, или пациентам, которые, согласно прогнозу, будут отвечать на другую терапию на основе ФНО (например, антагонистами ФНО, такими как анти-ФНО препараты (например, Хумира), EMBREL, антагонистами CD28, антагонистами CD20 и антагонистами ИЛ-6/pИЛ-6). Согласно другим вариантам реализации указанные связывающие ФНО мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациентам, которые ранее не отвечали на другую терапию на основе ФНО, или пациентам, которые, согласно прогнозу, не будут отвечать на другую терапию на основе ФНО.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела, которое связывает ФНО.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает ФНО и мишень, выбранную из CD20, TNFRSF5 (CD40), CD45RB, CD52, CD200, CCR2, PAFR, pИЛ-6, TNFRSF1A, VLA4, CSF2, TNFSF5 (лиганд CD40), TLR2, TLR4, GPR44, FASL, TREM1, ИЛ-1, ИЛ-1-бета, pИЛ-1N, тканевого фактора, MIF, MIP2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, TNFSF12 (TWEAK), ЛПС, CXCL13, ФРЭС, ИФН- γ , ГМКСФ, FGF, C5 и CCR3. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФНО и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-

компонент MRD-содержащего антитела выбран из адалимумаба, цертолизумаба, голимумаба и АМЕ-527.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела, которое связывает ФНО. Согласно конкретному варианту реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает ФНО и мишень, выбранную из CD1C, CD3, CD4, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD28, CD37, CD38, CD45RB, CD52, CD69, CD72, CD74, CD75, CD79A, CD79B, CD80, CD81, CD83, CD86, CD200, pИЛ-2A, pИЛ-12, pИЛ-6, VLA4, HLA-DRA, HLA-A, ITGA2, ITGA3, CSF2, TLR2, TLR4, GPR44, TREM1, TIE2, FASL, тканевого фактора, MIF, MIP2, ИЛ-1, ИЛ-1-бета, pИЛ-1N, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, TIE2, TNFRSF1A, TNFRSF5 (CD40), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF7 (CD27), TNFRSF8 (CD30), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFSF12 (TWEAK), TNFSF13B (BLyS), ANG2, ICOSL (B7-H2), MS4A1, ИФН- α , ИФН- β 1, ИФН- γ , TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), PAFR, INHA, INHBA, DPP4, NT5E, CTLA4, B7.1/B7.2, ЛПС, ФРЭС, ГМКСФ, ФРФ, C5, CXCL13, CXCR4, CCR2 и CCR3. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят для лечения ревматоидного артрита, и указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции связывают ФНО и мишень, выбранную из CD19, CD20, CD45RB, CD52, CD200, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF13B (BLyS), ФРЭС, VLA4, ИФН- γ , интерферон- α , ГМКСФ, ФРФ, C5, CXCL13 и CCR2. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят для лечения рассеянного склероза, и указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции связывают ФНО и мишень, выбранную из ANG2, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-23, CXCL13, TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), ФРЭС, VLA4, ФНО, CD45RB, CD200, ИФН- γ , ГМКСФ, ФРФ, C5, CD52, TNFRSF1A, TNFRSF5 (CD40), TIE2, TNFRSF 6 (Fas, CD95), TNFRSF 7 (CD27), TNFRSF 8 (CD30), TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF6 (Fas лиганд), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFRSF21 (DR6), TNFSF12 (TWEAK), TNFSF13B (BLyS), ICOSL (B7-H2), MS4A1, ИФН- α , ИФН- β 1, ИФН- γ , TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), CCR2 и CXCL13. Мультивалентные и мультиспецифические композиции, которые связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела выбран из адалимумаба, цертолизумаба, голимумаба и АМЕ-527. Согласно другим вариантам реализации указанные связывающие ФНО мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациентам, ранее, как было показано, отвечавшим на терапию аутоиммунного заболевания, или пациентам, которые, согласно прогнозу, будут отвечать на другую терапию аутоиммунного заболевания (например, антагонистами ФНО, такими как анти-ФНО препараты (например, Хумира®), ENBREL®, антагонистами CD28, антагонистами CD20, антагонистами BLyS и антагонистами ИЛ-6/pИЛ-6). Согласно другим вариантам реализации указанные связывающие ФНО мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациентам, которые ранее не отвечали на другую терапию аутоиммунного заболевания, или пациентам, которые, согласно прогнозу, не будут отвечать на другую терапию аутоиммунного заболевания.

Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества адалимумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания путем введения терапевтически эффективного количества адалимумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ревматоидного артрита путем введения терапевтически эффективного количества адалимумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения воспалительного расстройства путем введения терапевтически эффективного количества адалимумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения болезни Крона путем введения терапевтически эффективного количества адалимумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения язвенного колита путем введения терапевтически эффективного количества адалимумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения псориатического артрита, анкилозирующего спондилита, псориаза или ювенильного идиопатического артрита путем введения терапевтически эффективного количества адалимумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждаю-

- 132 -

количества даклизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту.

Гибридные белки с антителами и MRD, содержащие антитела и/или домены MRD, которые связывают раковые антигены или другие мишени, связанные с возникновением, прогрессированием и/или метастазами раковых заболеваний, описаны в настоящем документе или известны в данной области техники и могут использоваться в соответствии со способами, предложенными в настоящем изобретении, для лечения раковых заболеваний. Согласно конкретным вариантам реализации гибридные белки с антителами и MRD содержат антитело и/или MRD, которые связываются с мишенью, идентифицированной в настоящем документе.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего рЭФР MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества цетуксимаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания путем введения терапевтически эффективного количества цетуксимаба, содержащего по меньшей мере один MRD пациенту, страдающему раком толстой и прямой кишки. Согласно еще одному варианту реализации терапевтически эффективные количества цетуксимаба, содержащего по меньшей мере один MRD, вводят пациенту для лечения метастатического рака толстой и прямой кишки, метастатического рака молочной железы, метастатического рака поджелудочной железы или метастатического немелкоклеточного рака легких. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания путем введения терапевтически эффективного количества цетуксимаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему плоскоклеточной карциномой головы и шеи.

Согласно еще одному варианту реализации терапевтически эффективное количество связывающего рЭФР MRD-содержащего антитела вводят в комбинации с иринотеканом, FOLFIRI, химиотерапией на основе платины или лучевой терапией. Согласно конкретному варианту реализации терапевтически эффективное количество цетуксимаба, содержащего по меньшей мере один MRD, вводят в комбинации с иринотеканом, FOLFIRI, химиотерапией на основе платины или лучевой терапией.

Согласно определенным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-антитела, описанного в настоящем документе, нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения солидного рака путем введения терапевтически эффективного количества связывающего солидное раковое новообразование MRD-антитела, описанного в настоящем документе (например, MRD-антитела, которое связывает валидированную ассоциированную с солидной опухолью мишень согласно описанию в настоящем документе), нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения солидного рака путем введения терапевтически эффективного количества MRD-антитела, которое связывается с представителем группы, состоящей из: рИФР1, ALK1, р-кадгерина, CRYPTO и интегрина $\alpha 5\beta 1$. Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент вводимого MRD-антитела выбрано из фигитумаба, CP-870893, PF-3732010, PF-3446962, волоциксимаба, ВІВ022 и антитела CRYPTO от Biogen.

Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), описанные в настоящем документе, подходят для лечения раковых заболеваний. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложены способы лечения ракового заболевания, включающие введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела пациенту (например, пациенту (субъекту), нуждающемуся в лечении). Согласно определенным вариантам реализации указанное раковое заболевание представляет собой раковое заболевание, выбранное из группы, состоящей из рака толстой и прямой кишки, рака поджелудочной железы, рака легкого, рака яичника, рака печени, рака молочной железы, рака головного мозга, рака почки, рака предстательной железы, рака ЖКТ, меланомы, рака шейки матки, рака мочевого пузыря, глиобластомы и рака головы и шеи. Согласно определенным вариантам реализации указанное раковое заболевание представляет собой рак молочной железы. Согласно определенным вариантам реализации указанный пациент представляет собой человека.

Другие примеры раковых заболеваний или злокачественных новообразований, лечение которых может проводиться с применением MRD-содержащих антител и доменов MRD, включают, не ограничиваясь перечисленными, острый лимфобластный лейкоз детского возраста, острый лимфобластный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, карциному коры надпочечников, гепатоцеллюлярный рак взрослых (первичный), рак печени взрослых (первичный), острый лимфоцитарный лейкоз взрослых, острый миелоидный лейкоз взрослых, болезнь Ходжкина взрослых, лимфома Ходжкина взрослых, лимфоцитарный лейкоз взрослых, неходжкинская лимфома взрослых, первичный рак печени взрослых, саркома мягких тканей взрослых, СПИД-ассоциированную лимфому, СПИД-

ассоциированные злокачественные новообразования, рак анального канала, астроцитому, рак желчных протоков, рак мочевого пузыря, рак кости, рак ствола мозга, опухоли головного мозга, рак молочной железы, рак почечной лоханки и мочеточника, (первичную) лимфому центральной нервной системы, лимфому центральной нервной системы, астроцитому мозжечка, астроцитомы головного мозга, рак шейки матки, (первичный) гепатоцеллюлярный рак детского возраста, (первичный) рак печени детского возраста, острый лимфобластный лейкоз детского возраста, острый миелоидный лейкоз детского возраста, рак ствола мозга детского возраста, астроцитому мозжечка детского возраста, астроцитому головного мозга детского возраста, экстракраниальных опухолей клеток зародышевой линии детского возраста, болезнь Ходжкина детского возраста, лимфому Ходжкина детского возраста, глиому гипоталамической области и зрительного пути детского возраста, лимфобластный лейкоз детского возраста, медуллобластома детского возраста, неходжкинскую лимфому детского возраста, опухоли шишковидной железы и супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли детского возраста, первичный рак печени детского возраста, рабдомиосаркому детского возраста, саркому мягких тканей детского возраста, глиому зрительного пути и гипоталамической области детского возраста, хронический лимфолейкоз, хронический миелогенный лейкоз, рак толстой кишки, кожную Т-клеточную лимфому, эндокринную карциному островковых клеток поджелудочной железы, рак эндометрия, эпендимому, эпителиальный рак, рак пищевода, саркому Юинга и связанные с ней опухоли, экзокринный рак поджелудочной железы, экстракраниальную опухоль клеток зародышевой линии, внегонадную опухоль клеток зародышевой линии, внепеченочный рак желчных протоков, рак глаза, рак молочной железы у женщин, болезнь Гоше, рак желчного пузыря, рак желудка, карциноидную опухоль ЖКТ, опухоли ЖКТ, опухоли клеток зародышевой линии, гестационную трофобластическую опухоль, лейкоз ворсистых клеток, рак головы и шеи, гепатоцеллюлярный рак, болезнь Ходжкина, лимфому Ходжкина, гипергаммаглобулинемию, гипотиреоидный рак, рак кишечника, внутриглазную меланому, карциному островковых клеток, рак островковых клеток поджелудочной железы, саркому Капоши, рак почки, рак гортани, рак губ и ротовой полости, рак печени, рак легкого, лимфопролиферативные расстройства, макроглобулинемию, рак молочной железы мужчин, злокачественную мезотелиому, злокачественную тимому, медуллобластома, меланому, мезотелиому, метастатический скрытый первичный плоскоклеточный рак шеи, метастатический первичный плоскоклеточный рак шеи, метастатический плоскоклеточный рак шеи, множественную миелому, множественную миелому/новообразование плазматических клеток, миелодиспластический синдром, миелогенный лейкоз, миелоидный лейкоз, миелопролиферативные расстройства, рак полости носа и придаточных пазух, рак носоглотки, нейробластома, неходжкинскую лимфому при беременности, немеланотичарный рак кожи, немелкоклеточный рак легкого, скрытый первичный метастатический плоскоклеточный рак шеи, рак ротоглотки, остеосаркому/злокачественную фиброзную саркому, остеосаркому/злокачественную фиброзную гистиоцитому, остеосаркому/злокачественную фиброзную гистиоцитому кости, эпителиальный рак яичника, герминогенную опухоль яичника, опухоль яичника с низким злокачественным потенциалом, рак поджелудочной железы, парапротеинемии, пурпuru, рак паразитовидной железы, рак полового члена, феохромоцитому, опухоль гипофиза, новообразование плазматических клеток/множественную миелому, первичную лимфому центральной нервной системы, первичный рак печени, рак предстательной железы, рак прямой кишки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки и мочеточника, ретинобластома, рабдомиосаркому, рак слюнных желез, саркоидоз, саркомы, синдром Сезари, рак кожи, мелкоклеточный рак легкого, рак тонкой кишки, саркома мягких тканей, плоскоклеточный рак шеи, рак желудка, супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли и опухоли шишковидной железы, Т-клеточную лимфому, рак яичка, тимому, рак щитовидной железы, переходноклеточный рак почечной лоханки и мочеточника, переходный рак почечной лоханки и мочеточника, трофобластические опухоли, рак клеток мочеточника и почечной лоханки, рак уретры, рак матки, саркому матки, рак влагалища, глиому зрительных путей и гипоталамической области, рак вульвы, макроглобулинемию Вальденстрема и опухоль Вильмса.

Согласно некоторым вариантам реализации мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) подходят для ингибирования роста опухоли. Согласно определенным вариантам реализации указанный способ ингибирования роста опухоли включает приведение клетки в контакт с MRD-содержащим антителом *in vitro*. Например, иммортализованную клеточную линию или раковую клеточную линию, которая экспрессирует мишень MRD и/или мишень антитела, культивируют в среде, к которой добавлено MRD-содержащее антитело для ингибирования роста опухоли. Согласно некоторым вариантам реализации опухолевые клетки выделяют из образца, полученного от пациента, например биоптата ткани, плеврального экссудата или образца крови, и культивируют в среде, к которой добавлено MRD-содержащее антитело для ингибирования роста опухоли.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ ингибирования роста опухоли включает приведение опухоли или опухолевых клеток в контакт с терапевтически эффективным количеством MRD-содержащего антитела *in vivo*. Согласно определенным вариантам реализации приведение опухоли или опухолевой клетки в контакт происходит в модели на животных. Например, мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) могут вводиться в ксенотрансплантаты у иммунокомпрометированных мышей (например, мышей NOD/SCID) для ингибиро-

вания роста опухоли. Согласно некоторым вариантам реализации раковые стволовые клетки выделяют из образца, полученного от пациента, например биоптата ткани, плеврального экссудата или образца крови, и инъецируют мышам с иммунной недостаточностью, которым затем вводят MRD-содержащее антитело для ингибирования роста опухолевых клеток. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят животному в тот же момент времени, что и опухолеобразующие клетки, или вскоре после введения опухолеобразующих клеток для предотвращения роста опухоли. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в качестве терапевтического средства после того, как опухолеобразующие клетки вырастают до определенного размера.

Согласно определенным вариантам реализации способ ингибирования роста опухоли включает введение пациенту (субъекту) терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела. Согласно определенным вариантам реализации указанный пациент представляет собой человека. Согласно определенным вариантам реализации у указанного пациента имеется опухоль или была удалена опухоль. Согласно определенным вариантам реализации указанная опухоль экспрессирует мишень антитела. Согласно определенным вариантам реализации указанная опухоль сверхэкспрессирует мишень MRD и/или мишень антитела.

Согласно определенным вариантам реализации опухоль, рост которой ингибирован, выбрана из группы, состоящей из опухоли головного мозга, опухоли толстой и прямой кишки, опухоли поджелудочной железы, опухоли легкого, опухоли яичника, опухоли печени, опухоли молочной железы, опухоли почки, опухоли предстательной железы, опухоли ЖКТ, меланомы, опухоли шейки матки, опухоли мочевого пузыря, глиобластомы и опухоли головы и шеи. Согласно определенным вариантам реализации указанная опухоль представляет собой опухоль молочной железы.

Согласно дополнительным вариантам реализации мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) подходят для снижения онкогенности. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации способ снижения онкогенности опухоли у пациента включает введение терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) пациенту. Согласно определенным вариантам реализации указанная опухоль содержит раковые стволовые клетки. Согласно определенным вариантам реализации частота встречаемости раковых стволовых клеток в опухоли снижается в результате введения указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела). Согласно другим вариантам реализации мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) подходят для диагностики, лечения или предотвращения расстройства иммунной системы. Согласно одному варианту реализации указанное расстройство иммунной системы представляет собой воспаление или воспалительное расстройство. Согласно более конкретному варианту реализации указанное воспалительное расстройство выбрано из группы, состоящей из астмы, аллергических расстройств и ревматоидного артрита. Согласно дополнительному варианту реализации указанное расстройство иммунной системы представляет собой аутоиммунное заболевание. Аутоиммунные расстройства, заболевания или состояния, диагностика, лечение или предотвращение которых может проводиться с применением мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), включают, не ограничиваясь перечисленными, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунную тромбоцитопению новорожденных, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, аутоиммунную нейтропению, аутоиммунную цитопению, гемолитическую анемию, антифосфолипидный синдром, дерматит, глютен-чувствительную энтеропатию, аллергический энцефаломиелит, миокардит, рецидивирующий полихондрит, ревматическое заболевание сердца, гломерулонефрит (например, IgA-нефропатию), рассеянный склероз, неврит, увеит, офтальмит, полиэндокринопатии, пурпуру (например, пурпуру Шенлейна-Геноха), болезнь Рейтера, синдром скованного человека, аутоиммунное воспаление легких, миокардит, IgA-гломерулонефрит, болезнь плотного осадка, ревматическое заболевание сердца, синдром Гийена-Барре, инсулинозависимый сахарный диабет, аутоиммунное воспалительное заболевание глаз, аутоиммунный тиреоидит, гипотиреозидизм (т.е. тиреоидит Хашимото), системную красную волчанку, дискоидную волчанку, синдром Гудпасчера, пузырчатку, аутоиммунитет к рецепторам, например (а) болезнь Грейвса, (b) тяжелую миастению и (с) инсулинорезистентность, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунную тромбоцитопеническую пурпуру, ревматоидный артрит, склеродермию с антителами против коллагена, смешанное заболевание соединительной ткани, полимиозит/дерматомиозит, пернициозную анемию, идиопатическую болезнь Аддисона, бесплодие, гломерулонефрит, например первичный гломерулонефрит и IgA-нефропатию, буллезный пемфигоид, синдром Шегрена, сахарный диабет и резистентность к адренергическим лекарственным средствам (включая резистентность к адренергическим лекарственным средствам при астме или цистозифиброзе), хронический активный гепатит, первичный билиарный цирроз, другая недостаточность эндокринных желез, витилиго, васкулит, постинфарктный синдром, посткардиотомный синдром, крапивницу, атопический дерматит, астму, воспалительные миопатии и другие воспалительные, гранулематозные, дегенеративные и атрофические расстройства.

Согласно другому варианту реализации указанное расстройство иммунной системы, диагностика,

лечение или предотвращение которого проводится с применением мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), выбрано из группы, состоящей из болезни Крона, системной красной волчанки (СКВ), воспалительного заболевания кишечника, псориаза, диабета, язвенного колита, рассеянного склероза и ревматоидного артрита. Согласно предпочтительному варианту реализации аутоиммунное заболевание представляет собой ревматоидный артрит.

Согласно другим вариантам реализации терапевтически эффективное количество мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) вводят пациенту для лечения заболевания или расстройства обмена веществ.

Согласно другим вариантам реализации терапевтически эффективное количество мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) вводят пациенту для лечения заболевания или расстройства сердечно-сосудистой системы. Согласно одному варианту реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациенту для лечения тромбоза, атеросклероза, сердечного приступа или инсульта.

Согласно другим вариантам реализации терапевтически эффективное количество мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащих антител) вводят пациенту для лечения заболевания или расстройства скелетно-мышечной системы.

Согласно дополнительным вариантам реализации терапевтически эффективное количество мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) вводят пациенту для лечения заболевания или расстройства скелетной системы. Согласно одному варианту реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело) вводят пациенту для лечения остеопороза. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает (1) мишень на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке) и (2) мишень на лейкоците, такая как молекула Т-клеточного рецептора. В соответствии с одним вариантом связывание одной или большего количества мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией применяется для направления иммунного ответа на инфекционный агент, клетку, ткань или в другую представляющую интерес локализацию у пациента. Например, согласно некоторым вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает мишень на поверхности эффекторной клетки. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает мишень на поверхности Т-клетки. Согласно конкретным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3. Согласно другим вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD2. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает Т-клеточный рецептор (TCR). В соответствии с дополнительными вариантами реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает мишень на поверхности естественной клетки киллера. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает рецептор NKG2D (белок D естественных клеток киллеров группы 2).

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD16 (т.е. рецептор Fc- γ -II) CD64 (т.е. рецептор Fc- γ), или CD32 (т.е. рецептор Fc- γ -I). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция содержит более одного моноспецифического сайта связывания разных мишеней.

Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает мишень на лейкоците и опухолевый антиген на опухолевой клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает NKG2D. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает NKG2D и мишень, выбранную из ErbB2, рЭФР, рИФР-1, CD19, CD20, CD80 и EPCAM. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает CD3. Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает CD3-эпсилон. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD3 и мишень, выбранную из ErbB2, рЭФР, рИФР-1, CD19, CD20, CD80 и EPCAM. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает CD4. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD4 и мишень, выбранную из ErbB2, рЭФР, рИФР-1, CD19, CD20, CD80 и EPCAM.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. является моноспецифической). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. является

моноспецифической) на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3), и связывает мишень на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке, такой как раскрытая в настоящем документе мишень).

Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, которая содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. является моноспецифической). Согласно некоторым вариантам реализации указанная вводимая мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. является моноспецифической) на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3), и связывает мишень на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолеассоциированный антиген на опухолевой клетке). Согласно некоторым вариантам реализации указанная опухолевая клетка относится к раковому заболеванию, выбранному из рака молочной железы, рака толстой и прямой кишки, рака эндометрия, рака почки (почечно-клеточного рака), рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, лейкоза, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака поджелудочной железы и рака щитовидной железы.

Дополнительные варианты реализации относятся к введению терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции для лечения неврологического заболевания или расстройства, выбранного из рака головного мозга, нейродегенеративного заболевания, шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БАС, рассеянного склероза, оптиконейромиелита и нейро-СПИДа (например, ВИЧ-ассоциированной деменции). Согласно еще одному варианту реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения рака головного мозга, метастатического рака головного мозга или первичного рака головного мозга. Согласно дополнительному варианту реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения повреждения головного мозга, инсульта, повреждения спинного мозга или лечения болевого синдрома. Согласно дополнительным вариантам реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения повреждения головного мозга, инсульта или повреждения спинного мозга или лечения болевого синдрома.

Согласно одному варианту реализации терапевтически эффективное количество указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции вводят пациенту для лечения инфекции или симптома, связанного с инфекцией, вызванной инфекционным агентом. Согласно некоторым вариантам реализации указанная инфекция вызвана инфекционным агентом, выбранным из папавируса (например, полиомавируса JC), трипаномы, вируса Западного Нила, ВИЧ, *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*, губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота, менингита, прогрессирующей многоочаговой лейкоэнцефалопатии (ПМЛ), поздней неврологической стадии трипаномоза, энцефалита и бешенства.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) способна проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и связывать мишень, расположенную за ГЭБ со стороны головного мозга. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания, который связывает мишень (например, лиганд, рецептор или вспомогательный белок), связанную с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой. Согласно некоторым вариантам реализации единственный сайт связывания в композиции представляет собой MRD. Согласно другим вариантам реализации единственный сайт связывания в композиции представляет собой антигенсвязывающий домен антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество единственных сайтов связывания (т.е. моновалентно связывает) мишени, связанные с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой, и указанная композиция способна проникать через ГЭБ на сторону спинномозговой жидкости. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество множественных сайтов связывания (т.е. мультивалентно связывает мишень) мишени, связанной с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой, и указанная композиция способна проникать через ГЭБ на сторону спинномозговой жидкости. Согласно дополнительным вариантам реализации терапевтически эффективное количество MRD-содержащего антитела вводят пациенту для лечения неврологического заболевания или расстройства, выбранного из рака головного мозга, нейродегенеративного заболевания, шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БАС, рассеянного склероза, оптиконейромиелита и нейро-СПИДа (например, ВИЧ-ассоциированной деменции). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания (т.е. является моновалентным в отношении связывания конкретной мишени (антиген)) или два или большее количество сайтов связывания мишени (т.е. является моновалентным в отношении связывания конкретной мишени), выбранной из α -синуклеина, RGM A,

NOGO A, NgR, OMGr MAG, CSPG, ингибирующих рост нейритов семафоринов (например, семафорина 3A и семафорина 4), эфрина, A- β , AGE (S100 A, амфотерин), НРФ, растворимого A-B, агглека, мидкина, нейрокана, версикана, фосфакана, Te38 и PGE2. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция дополнительно содержит единственный сайт связывания или несколько сайтов связывания мишени, выбранной из ИЛ-1, pИЛ-1, ИЛ-6, pИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-23, TNFSF12 (TWEAK), TNFSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганда CD40), CD45RB, CD52, CD200, ФРЭС, VLA4, ФНО- α , интерферона- γ , ГМКФС, ФРФ, C5, CXCL13, CCR2, CB2, MIP 1a и MCP-1.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция способна проникать через ГЭБ в спинномозговую жидкость и вводится пациенту для лечения неврологического заболевания или расстройства, выбранного из рака головного мозга, нейродегенеративного заболевания, шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БАС, рассеянного склероза, оптиконейромиелита и нейро-СПИДа (например, ВИЧ-ассоциированной деменции). Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения MRD-содержащего антитела, которое содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. является моноспецифическим) нуждающемуся в этом пациенту. Согласно некоторым вариантам реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. является моноспецифической) на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3), и связывает мишень на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолеассоциированный антиген на опухолевой клетке).

Согласно некоторым вариантам реализации указанную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения неврологического заболевания или расстройства, выбранного из рака головного мозга, нейродегенеративного заболевания, шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БАС, рассеянного склероза, оптиконейромиелита и нейро-СПИДа (например, ВИЧ-ассоциированной деменции). Согласно дополнительным вариантам реализации указанную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения рака головного мозга, метастатического рака головного мозга или первичного рака головного мозга. Согласно дополнительным вариантам реализации указанную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения повреждения головного мозга, инсульта, повреждения спинного мозга или боли. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанное заболевание, расстройство, или повреждение, лечение или предотвращение которого проводится с применением MRD-содержащего антитела или MRD согласно настоящему изобретению, является неврологическим. Согласно одному варианту реализации указанное неврологическое заболевание, расстройство или повреждение связано с болью, такой как острая боль или хроническая боль.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, связанных с неврологическим заболеванием или расстройством. Согласно одному варианту реализации указанная мультиспецифическая композиция связывает 1, 2 или все 3 из мишеней RGM A; NgR и NogoA. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультиспецифическая композиция связывает 1, 2, 3 или все 4 мишени из RGM A, RGM B, семафорина 3A или семафорина 4. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из агглека, мидкина, нейрокана, версикана, фосфакана, Te38, ФНО- α , NogoA, RGM A, MAG и OMGr. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из агглека, мидкина, нейрокана, версикана, фосфакана, Te38 и ФНО- α . Согласно альтернативному варианту реализации указанная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из NgR-p75, NgR-Troy, NgR-Nogo66 (Nogo), NgR-Lingo, Lingo-Troy, Lingo-p75, MAG и OMGr. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из НРФ, простагландин E2 (PGE2), ФНО- α , ИЛ-1- β и pИЛ-6.

Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из α -синуклеина, RGM A и один или большее количество провоспалительных медиаторов (например, ФНО- α , ИЛ-1 и MCP-1). Такие композиции находят применение, например, при лечении нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона.

Согласно еще одному варианту реализации указанная мультиспецифическая композиция связывает и действует как антагонист (т.е. представляет собой антагонист, например, ингибирует активность) 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из RGM A, NOGO A, ингиби-

рующих рост нейритов семафоринов (например, семафорина 3А и семафорина 4), эфринов и провоспалительных мишеней (например, ИЛ-12, TNFSF12 (TWEAK), ИЛ-23, CXCL13, TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганда CD40), ИЛ-18, ФРЭС, VLA4, ФНО- α , CD45RB, CD200, интерферона- γ , ГМКФС, ФРФ, C5, CD52 и CCR2). Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает и действует как антагонист 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из CD3, ИЛ-2, рИЛ-2, ИЛ-6, рИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12p40, ИЛ-23, ТФР- β , TNFRSF21 (DR6), fn14, CD20, LINGO, CXCL13 и CCL2. Указанные композиции находят применение в лечении, например, воспаления, нейродегенерации и нейродегенеративных расстройств, таких как РС. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD3, CD20, CD52, VLA4, ФНО, TNFRSF21 (DR6), LINGO, CD3, интерферон- γ или ИЛ-6.

Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает и действует как антагонист (т.е. представляет собой антагонист) 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из AGE (S100 A, амфотерин), провоспалительных цитокинов (например, ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО), хемокинов (например, MCP 1) и молекул, которые ингибируют нейронную регенерацию (например, Nogo и RGM A). Указанные композиции находят применение в лечении, например, хронических нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера. Согласно дополнительному варианту реализации композиции, предложенная в настоящем изобретении, связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, которые оказывают воздействие на нейронную генерацию и выживаемость, включая, например, агонисты НРФ, антагонисты ИЛ-1 или рИЛ-1, и А- β . Указанные композиции находят применение в лечении, например, хронических нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера.

Согласно дополнительному варианту реализации композиция, предложенная в настоящем изобретении, связывает и действует как антагонист на 1, 2, 3, 4, или 5 мишеней, влияющих на нейронную регенерацию или восстановление, включая Nogo A, OMGr MAG, RGM A, CSPG, один или большее количество ингибирующих астроциты семафоринов (например, семафорин 3А и семафорин 4), эфрины и провоспалительные цитокины (например, ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО). Указанные композиции находят применение в лечении нейродегенеративных заболеваний и неврологических повреждений или травм.

Согласно дополнительному варианту реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает и антагонизирует (т.е. представляет собой антагонист) 1, 2, 3, 4, или 5 мишеней, связанных с болью, включая, но не ограничиваясь перечисленными, НРФ и SCN9A/NAV1.7. Такие композиции находят применение, например, для лечения или облегчения боли и связанных с болью состояний.

Согласно дополнительным вариантам реализации мишени, связываемые композициями, предложенными в настоящем изобретении, связывает и действует как антагонист 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества медиаторов и/или растворимых мишеней или мишеней клеточной поверхности, вовлеченных в ингибирование роста или восстановление нейрита. Согласно конкретным вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, связывают и действуют как антагонисты 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества мишеней, выбранных из Nogo, Ompg, MAG, RGM A, семафоринов, эфринов, растворимого А- β , провоспалительных цитокинов (например, ИЛ-1 и ФНО- α), хемокинов (например, MIP 1a).

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения боли путем введения терапевтически эффективного количества связывающего ассоциированную с болью мишень MRD-антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения боли путем введения терапевтически эффективного количества связывающего НРФ MRD-антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения боли путем введения терапевтически эффективного количества танезумаба (например, Pfizer), содержащего MRD, нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения болезни Альцгеймера путем введения терапевтически эффективного количества связывающего ассоциированную с болезнью Альцгеймера мишень MRD-антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения болезни Альцгеймера путем введения терапевтически эффективного количества связывающего β -амилоид MRD-антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения болезни Альцгеймера путем введения терапевтически эффективного количества RN1219 (PF-4360365; Pfizer), содержащего MRD, нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества

связывающего ассоциированную с рассеянным склерозом мишень MRD-антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества связывающего LINGO MRD-антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества MRD-антитела, которое связывает LINGO и TNFRSF21 (DR6), нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества антитела Biogen к LINGO, содержащего MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества натализумаба (например, TYSABRI®; Biogen), содержащего MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества антитела Biogen к LINGO, содержащего MRD, нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно дополнительному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества связывающего CD20 MRD-антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества окрелизумаба (Biogen Idec), содержащего MRD, нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно другим вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) подходят для лечения или предотвращения инфекционного заболевания. Инфекционные заболевания, лечение которых может проводиться или которые могут быть предотвращены с применением мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), включают, не ограничиваясь перечисленными, заболевания, связанные с дрожжевыми, микотическими, вирусными и бактериальными инфекциями. Вирусы, вызывающие вирусные инфекции, лечение которых может проводиться или которые могут быть предотвращены с применением мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), включают, не ограничиваясь перечисленными, ретровирусы (например, Т-клеточный лимфотропный вирус человека (ТЛВЧ) I и II типов и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ)), герпесвирусы (например, вирус простого герпеса (ВПГ) I и II типов, вирус Эпштейна-Барр, ВГЧ6-ВГЧ8 и цитомегаловирус), аренавирусы (например, вирус лихорадки Ласса), парамиксовирусы (например, морбилливирус, респираторно-синцитиальный вирус человека, вирус эпидемического паротита и пневмовирус), аденовирусы, буньявирусы (например, хантавирус), коронавирусы, филловирусы (например, вирус Эбола), флавивирусы (например, вирус гепатита С (HCV), вирус желтой лихорадки и вирус японского энцефалита), гепаднавирусы (например, вирусы гепатита В (HBV)), ортомиовирусы (например, вирусы гриппа А, В и С (включая птичий грипп, например подтип H5N1)), паповавирусы (например, папилломавирусы), пикомавирусы (например, риновирусы, энтеровирусы и вирусы гепатита А), поксвирусы, реовирусы (например, ротавирусы), тогавирусы (например, вирус краснухи), рабдовирусы (например, вирус бешенства). Микроорганизмы-патогены, вызывающие бактериальные инфекции, включают, не ограничиваясь перечисленными, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoea*, *Neisseria meningitidis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter (Vibrio) fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Edwardsiella tarda*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium*, *Treponema pallidum*, *Treponema pertense*, *Treponema caratense*, *Borrelia vincentii*, *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira icterohemorrhagiae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Toxoplasma gondii*, *Pneumocystis carinii*, *Francisella tularensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella melitensis*, *Mycoplasma spp.*, *Rickettsia prowazekii*, *Rickettsia tsutsugamushi*, *Chlamydia spp.* и *Helicobacter pylori*.

Согласно предпочтительному варианту реализации мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациенту для лечения или предотвращения инфекции вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) или СПИДа, ботулизма, сибирской язвы или *Clostridium difficile*.

VIII. Связанные с MRD соединения, не являющиеся антителами.

Согласно относящимся к отдельной группе вариантам реализации один или большее количество доменов MRD согласно настоящему изобретению функционально связаны с аминоконцом и/или карбоксильным концом фрагмента иммуноглобулина, таким как Fab, Fab', F(ab')₂, pFc' или Fc. Согласно некоторым вариантам реализации указанные домены MRD функционально связаны с полипептидом Fab или Fc, содержащим дополнительный домен Ig. Согласно некоторым вариантам реализации указанные домены MRD функционально связаны с аминоконцом и/или карбоксильным концом фрагмента иммуноглобули-

на, который также функционально связан с scFv. Согласно другим вариантам реализации MRD, предложенные в настоящем изобретении, функционально связаны с гибридным белком Fc.

В соответствии с относящимися к указанной группе вариантами реализации один, два, три, четыре, пять, шесть, от семи до десяти или более десяти доменов MRD функционально связаны с аминоконцом и/или карбоксильным концом фрагмента иммуноглобулина. Указанные домены MRD, необязательно, связаны между собой или с фрагментом иммуноглобулина посредством линкера. Согласно одному варианту реализации один, два, три, четыре, пять, шесть, от семи до десяти или более десяти доменов MRD, функционально связанные с аминоконцом и/или карбоксильным концом фрагмента иммуноглобулина, являются одинаковыми. Согласно еще одному варианту реализации один, два, три, четыре, пять, шесть, от семи до десяти или более десяти доменов MRD, функционально связанные с аминоконцом и/или карбоксильным концом фрагмента иммуноглобулина, являются разными.

Домены MRD, функционально связанные с фрагментом иммуноглобулина, могут быть мономерными (т.е. содержать один MRD на конце пептидной цепи, необязательно, присоединенный посредством линкера) или мультимерными (т.е. содержать более одного MRD, при этом MRD, необязательно, последовательно присоединены посредством линкера). Домены MRD могут быть гомомультимерными (т.е. содержать более одного одинакового MRD, при этом MRD, необязательно, последовательно присоединены посредством линкера(ов) (например, гомодимеры, гомотримеры, гомотетрамеры и т.д.)) или гетеромультимерными (т.е. содержать два или большее количество доменов MRD, среди которых присутствует по меньшей мере два разных домена MRD, необязательно, соединенных посредством линкера(ов), при этом все или некоторые домены MRD, соединенные с конкретным концом, отличаются (например, в гетеродимере)). Согласно одному варианту реализации два разных мономерных домена MRD расположены на разных концах фрагмента иммуноглобулина. Согласно еще одному варианту реализации три, четыре, пять, шесть или более разных мономерных доменов MRD расположены на разных концах фрагмента иммуноглобулина.

Согласно альтернативному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один димерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один гомодимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один гетеродимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина.

Согласно альтернативному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один мультимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один гомомультимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один гетеромультимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина.

Несколько MRD, функционально связанных с фрагментом иммуноглобулина, могут быть нацелены на один сайт связывания мишени, или на два или большее количество разных сайтов связывания мишени. В том случае, если домены MRD связываются с разными сайтами связывания мишени, указанные сайты связывания могут располагаться на одной и той же или на разных мишенях. Аналогичным образом, один или большее количество доменов MRD могут связываться с той же мишенью, что и фрагмент иммуноглобулина.

Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один из доменов MRD и, если это применимо, фрагмент иммуноглобулина (например, если фрагмент иммуноглобулина представляет собой Fab) связываются со своими мишенями одновременно. Согласно дополнительным вариантам реализации два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или более десяти доменов MRD, и, если это применимо, фрагмент иммуноглобулина, связывается со своими мишенями одновременно.

Синтез доменов MRD, функционально связанных с фрагментом иммуноглобулина, и анализ указанных MRD и фрагмента иммуноглобулина на способность связывать или конкурировать за связывание с одной или большим количеством мишеней одновременно, может быть осуществлен рутинным образом с применением способов, раскрытых в настоящем документе или известных из других источников в данной области техники.

Согласно конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD или фрагмент иммуноглобулина связывается с ФРЭС. Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD или фрагмент иммуноглобулина связывается с тем же эпитопом, что и ранибизумаб (LUCENTIS®, Genentech). Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD или фрагмент иммуноглобулина конкурентно ингибирует связывание ранибизумаба с ФРЭС. Согласно дополнительному варианту реализации указанный фрагмент иммуноглобулина представляет собой Fab. Согласно дополнительному конкретному варианту реализа-

ции указанный фрагмент иммуноглобулина представляет собой ранибизумаб.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего ФРЭС-А или рФРЭС гибрида MRD и фрагмента иммуноглобулина нуждающегося в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего ФРЭС-А или рФРЭС гибрида MRD-Fab нуждающегося в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-ранибизумаба нуждающегося в этом пациенту.

Согласно другим вариантам реализации один или большее количество доменов MRD согласно настоящему изобретению функционально связаны с аминоконцом и/или карбоксильным концом гибридного белка Fc. Гибридный белок Fc может включать гибриды с любым белком или полипептидной последовательностью, имеющей(им) терапевтическое значение, например с любыми мишенями или рецепторами мишеней, описанных в настоящем документе. Например, указанные гибриды могут содержать внеклеточный домен рецепторов или лигандов, который, как правило, функционирует или проявляет улучшенное связывание когнатного партнера в мультимерной форме, в том числе, например, рецепторов суперсемейства рецепторов ФНО (например, TNFR2, TACI, BCMA, HVEM и т.д.), суперсемейства рецепторов ИЛ (например, рецепторов ИЛ-1-ИЛ-6), суперсемейства рФРЭС (например, рФРЭС-1-рФРЭС-3), суперсемейства рецепторов ФРФ (например, рФРФ-1-рФРФ-4) и суперсемейства B7 (например, CTLA)).

Согласно конкретному варианту реализации один, два, три, четыре, пять, шесть или большее количество доменов MRD функционально связаны с гибридным белком рФРЭС-1/рФРЭС-2-Fc. Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD связываются с тем же эпитопом, что и афлиберцепт (Regeneron). Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD конкурентно ингибируют связывание афлиберцепта с ФРЭС-А или ПФР. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанные домены MRD функционально связаны с афлиберцептом.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-рФРЭС-1/рФРЭС-2-Fc нуждающегося в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рака толстой и прямой кишки, рака предстательной железы или немелкоклеточного рака легкого, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего ФРЭС-А или плацентарный фактор роста (ПФР) гибридного белка MRD-Fc нуждающегося в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего ФРЭС-А или плацентарный фактор роста (ПФР) гибридного белка MRD-Fc и иринотекана, 5FU, оксалиплатина, доцетаксела или FOLFOX6 нуждающегося в этом пациенту.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-афлиберцепта нуждающегося в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рака толстой и прямой кишки, рака предстательной железы или немелкоклеточного рака легкого, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-афлиберцепта нуждающегося в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-афлиберцепта и иринотекана, 5FU, оксалиплатина, доцетаксела или FOLFOX6 нуждающегося в этом пациенту.

Согласно конкретному варианту реализации один, два, три, четыре, пять, шесть или большее количество доменов MRD функционально связаны с гибридным белком CTLA4-Fc. Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD связываются с тем же эпитопом, что и абатацепт (ORENCIA®). Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD конкурентно ингибируют связывание абатацепта с CD80 (B7-1) или CD86 (B7-2). Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанные домены MRD функционально связаны с абатацептом. Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD связываются с тем же эпитопом, что и белатацепт (Bristol Myers Squibb). Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD конкурентно ингибирует связывание белатацепта с CD80 (B7-1) или CD86 (B7-2).

Согласно дополнительному варианту реализации указанный фрагмент иммуноглобулина представляет собой Fab. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанные домены MRD функционально связаны с белатацептом.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ подавления иммунного ответа, включающий введение терапевтически эффективного количества гибридного

одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD связываются с тем же эпитопом, что и атацисепт (Merck/Serono). Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD конкурентно ингибирует связывание атацисепта с BLYS или APRIL. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанные домены MRD функционально связаны с атацисептом.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ подавления иммунного ответа, включающий введение терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-TACI-Fc нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания путем введения терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-TACI-Fc нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ревматоидного артрита путем введения терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-TACI-Fc нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения системной красной волчанки путем введения терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-TACI-Fc нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ подавления иммунного ответа, включающий введение терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-атацисепт нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания путем введения терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-атацисепт нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ревматоидного артрита путем введения терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-атацисепт нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения системной красной волчанки, путем введения терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-атацисепт нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно еще одному конкретному варианту реализации один, два, три, четыре, пять, шесть или большее количество доменов MRD функционально связаны с гибридным белком rIL-1-Fc. Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD связываются с тем же эпитопом, что и рилонацепт (Regeneron). Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD конкурентно ингибируют связывание рилонацепта с rIL-1. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанные домены MRD функционально связаны с рилонацептом.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ предотвращения подагры, включающий введение терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-rIL-1-Fc нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ предотвращения подагры, включающий введение терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-рилонацепт-Fc нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает комплекс, содержащий антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), отличающийся тем, что указанный MRD содержит по меньшей мере два цистеина, при этом первый цистеин расположен в пределах первых десяти аминокислот указанного MRD, а второй цистеин расположен в пределах последних десяти аминокислот указанного MRD, и при этом указанный MRD содержит по меньшей мере пять аминокислот между указанным первым цистеином и указанным вторым цистеином. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный MRD содержит по меньшей мере 10, 15, 20 или 25 аминокислот между указанным первым цистеином и указанным вторым цистеином. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD содержит по меньшей мере один пролин между указанным первым цистеином и указанным вторым цистеином. Согласно другим вариантам реализации указанный MRD содержит по меньшей мере два пролина между указанным первым цистеином и указанным вторым цистеином. Согласно некоторым вариантам реализации указанный первый цистеин расположен на расстоянии не более чем 5, 3, 3, 2 или 1 аминокислоты от N-конца указанного комплекса. Согласно некоторым вариантам реализации указанный второй цистеин расположен на расстоянии не более чем 5, 3, 3, 2 или 1 аминокислоты от C-конца указанного комплекса. Согласно некоторым вариантам реализации период полувыведения домена MRD *in vivo* в комплексе согласно настоящему изобретению увеличен по сравнению с периодом полувыведения домена MRD в соответствующем комплексе, где по меньшей мере один из цистеинов мутирован или удален. Согласно некоторым вариантам реализации указанный сродство к связыванию указанного MRD по меньшей мере равно сродству к связыванию домена MRD в соответствующем комплексе, где по меньшей мере один из цистеинов мутирован или удален.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает комплекс, содержащий антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), при этом указанные антитело и MRD связываются с разными мишенями или эпитопами на одной клетке или молекуле, причем связывание MRD действует агонистически или действует антагонистически на мишень MRD в физиологических условиях, при этом указанный MRD не связывает, не обладает агонизирующим или анта-

гонизирующим действием на указанную мишень MRD в физиологических условиях в отсутствие указанного антитела. Согласно некоторым вариантам реализации MRD в комплексе согласно настоящему изобретению связывает мишень MRD в отсутствие указанного антитела с EC_{50} , составляющей более чем 0,01, 0,1, 0,5 или 0,7 нМ в физиологических условиях.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает комплекс, содержащий антитело и по меньшей мере один MRD, при этом указанные антитело и MRD связываются с разными мишенями или эпитопами на гетеромерном или гомомерном белке, причем связывание MRD действует как агонист или действует как антагонист мишени MRD в физиологических условиях, при этом указанный MRD не связывает, не обладает агонизирующим или антагонизирующим действием на указанную мишень MRD в физиологических условиях в отсутствие указанного антитела. Согласно некоторым вариантам реализации MRD в комплексе согласно настоящему изобретению связывает мишень MRD с EC_{50} , составляющей более чем 0,01, 0,1, 0,5 или 0,7 нМ в физиологических условиях.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает способ ингибирования роста клетки, включающий приведение указанной клетки в контакт с мультиспецифическим и мультивалентным комплексом, содержащим антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD) и ингибитор протеинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело связывается с мишенью, выбранной из ФРЭС, рФРЭС-1, рЭФР, ErbB2, рецептора ИФР-1 (IGF-IR), сMET, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) и рФРФ-2. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень, отличную от мишени MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует более одной протеинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы выбран из иматиниба, гефитиниба, вандетаниба, эрлотиниба, сунитиниба, лапатиниба и сорафениба.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает способ ингибирования ангиогенеза у пациента, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества мультиспецифического и мультивалентного комплекса, содержащего антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), и ингибитор протеинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело связывается с мишенью, выбранной из: ФРЭС, рФРЭС-1, рЭФР, ErbB2, рецептора ИФР-1 (IGF-IR), сMET, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) и рФРФ-2. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень, отличную от мишени MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует более одной протеинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы выбран из: иматиниба, гефитиниба, вандетаниба, эрлотиниба, сунитиниба, лапатиниба и сорафениба.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает способ лечения пациента, страдающего раковым заболеванием, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества мультиспецифического и мультивалентного комплекса, содержащего антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), и ингибитор протеинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело связывается с мишенью, выбранной из ФРЭС, рФРЭС-1, рЭФР, ErbB2, рецептора ИФР-1 (IGF-IR), сMET, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) и рФРФ-2. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень, отличную от мишени MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует более одной протеинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы выбран из: иматиниба, гефитиниба, вандетаниба, эрлотиниба, сунитиниба, лапатиниба и сорафениба.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает способ лечения пациента, у которого имеется заболевание или расстройство иммунной системы, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества мультиспецифического и мультивалентного комплекса, содержащего антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), и ингибитор протеинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанное заболевание или расстройство иммунной системы представляет собой воспаление или аутоиммунное заболевание. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное аутоиммунное заболевание представляет собой ревматоидный артрит, болезнь Крона, системную красную волчанку, воспалительное заболевание кишечника, псориаз, диабет, язвенный колит или рассеянный склероз. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное антитело связывает ФНО. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень, которая не является мишенью MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует более одной протеинкиназы. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы выбран из лестауртиниба, тофацитиниба, руксолитиниба, SB1518, CYT387, LY3009104,

TG101348, фостаматиниб, BAY 61-3606 и сунитиниба.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает мультивалентный и мультиспецифический комплекс, содержащий антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), при этом указанный комплекс содержит единственный сайт связывания мишени на клеточной поверхности. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мультивалентный и мультиспецифический комплекс содержит два единственных сайта связывания разных эпитопов на одной мишени. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мультивалентный и мультиспецифический комплекс содержит 2, 3, 4, 5 или большее количество единственных сайтов связывания разных мишеней. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мультивалентный и мультиспецифический комплекс содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мультивалентный и мультиспецифический комплекс содержит единственный сайт связывания мишени на Т-клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мультивалентный и мультиспецифический комплекс содержит единственный сайт связывания CD3. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит единственный сайт связывания CD3-эпсилон. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит единственный сайт связывания мишени на естественной клетке киллере. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания мишени на пораженной заболеванием клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания 2, 3, 4, 5 или большего количества мишеней на пораженной заболеванием клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания мишени на опухолевой клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания 2, 3, 4, 5 или большего количества мишеней на опухолевой клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания мишени на иммунной клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания 2, 3, 4, 5 или большего количества мишеней на иммунной клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанный комплекс содержит единственный сайт связывания мишени на естественной клетке киллере. Согласно некоторым вариантам реализации указанный комплекс связывает мишень на лейкоците и мишень на опухолевой клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанный комплекс связывает CD3 и CD19. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания мишени на инфекционном агенте или клетке, инфицированной инфекционным агентом. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания 2, 3, 4, 5 или большего количества мишеней на инфекционном агенте или клетке, инфицированной инфекционным агентом. Согласно некоторым вариантам реализации указанный комплекс содержит единственный сайт связывания мишени, связанной с опосредованной эндогенным рецептором гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) транспортной системой. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания мишени, связанной с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой. Согласно некоторым вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания 2, 3, 4, 5 или большего количества мишеней, связанных с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой. Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой MRD. Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой антигенсвязывающий домен.

Согласно некоторым вариантам реализации комплексы согласно настоящему изобретению содержат цитотоксический агент.

Полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или легкую цепь MRD-содержащего антитела согласно настоящему изобретению, векторы, содержащие указанные полинуклеотиды, и клетки-хозяева, содержащие указанные векторы и/или полинуклеотиды, также охвачены настоящим изобретением.

Приведенные ниже примеры предназначены для иллюстрации, но не для ограничения настоящего изобретения.

Примеры

Пример 1. Нацеленные на интегрины молекулы антитело-MRD.

Новые гибридные молекулы антитело-MRD получали путем соединения нацеленных на интегрин $\alpha v \beta 3$ пептидов с каталитическим антителом 38C2. Гибриды на N-концах и C-концах легкой цепи и C-концах тяжелой цепи были наиболее эффективными. С применением проточной цитометрии было показано, что конъюгаты антител эффективно связываются с экспрессирующими интегрин $\alpha v \beta 3$ клетками рака молочной железы человека. Конъюгаты антител также сохраняли ретроальдозольную активность исходного каталитического антитела 38C2, по оценке на основании активации пролекарств методолом и доксорубицином. Это показывает, что нацеливание на клетки и свойства каталитического антитела могут быть эффективно скомбинированы для селективной химиотерапии.

Пример 2. Нацеленные на ангиогенный цитокин молекулы антитело-MRD.

Конструировали нацеленную на ангиогенный цитокин гибридную молекулу антитело-MRD. Ис-

пользовали антитело 38C2, которое соединяли с MRD, содержащим пептид 2×Con4 (AQQEECEWDPWTCEHMGSGSATGGSGSTA

SSGSGSATHQEECEWDPWTC EHMLE (SEQ ID NO:10)).

MRD-содержащий пептид соединяли либо с N-концом, либо с C-концом легкой цепи и C-концом тяжелой цепи. Аналогичные результаты были получены с другими нацеленными на Ang2 пептидами MRD. Дополнительные нацеленные на Ang2 пептиды MRD включают

MGAQTNFMPMDNDELLLYEQFILQQGLEGGSGSTASSGSGSSLGAQT

NFMPMDNDELLLY (SEQ ID NO:20) (LM-2×-32); и AQQEECEWDPWTCEHMGSGSATGGSGSTASSGSGSATHQEECEWDPWTC EHMLE (SEQ ID NO:10)

(2×Con4).

Специалисту в данной области техники, с учетом изложенных в настоящем документе принципов, будет понятно, что и другие такие комбинации образуют функциональные связывающие Ang2 домены MRD согласно описанию в настоящем документе.

Пример 3. Гибриды антитело-MRD с каталитическими антителами.

Ранее было описано гуманизированное моноклональное антитело мыши, LM609, против интегрина $\alpha v \beta 3$ человека (Rader, C. et al., PNAS 95:8910-5 (1998)). Некаталитическое моноклональное антитело человека JC7U соединяли с MRD против Ang2, содержащим 2×Con4

(AQQEECEWDPWTCEHMGSGSATGGSGSTASSGSGSATHQEECEWDPWTC EHM

MLE (SEQ ID NO:10))

на N-конце либо на C-конце легкой цепи. 2×Con4

(AQQEECEWDPWTCEHMGSGSATGGSGSTASSGSGSATHQEECEWDPWT

CEHMLE (SEQ ID NO:10))

исследовали в виде N-концевого гибрида с к-цепью антитела (2×Con4-JC7U) и в виде C-концевого гибрида (JC7U-2×Con4). Оба гибрида сохраняли способность связывать интегрин и ANG2. На левой панели на фиг. 3 видно, что обе конструкции с антителами (2×Con4-JC7U и JC7U-2×Con4) специфически связывались с рекомбинантным Ang2, как было продемонстрировано в исследовании с применением ИФА ELISA. Связывание с Ang2, однако, значительно выше для JC7U-2×Con4, содержащего 2×Con4 (SEQ ID NO: 10), соединенный с C-концом легкой цепи антитела. На правой панели фиг. 3 показано связывание Ang2-JC7U и JC7U-Ang2 с интегрином $\alpha v \beta 3$. Результаты показывают, что соединение 2×Con4 (SEQ ID NO: 10) с N- или C-концом легкой цепи не влияло на связывание моноклонального антитела JC7U с интегрином $\alpha v \beta 3$. На фиг. 4 представлено другое исследование методом ИФА ELISA с применением тех же гибридных конструкций антитело-MRD.

Пример 4. Гибридные молекулы Герцептин®-MRD.

Другой пример гибридов MRD с некаталитическим антителом представлен гибридными конструкциями Герцептин®-MRD. Гибриды Герцептин®-MRD являются многофункциональными, одновременно являясь низкомолекулярными антагонистами интегрин αv и химически запрограммированными нацеленными на интегрин антителами, которые демонстрируют выраженную эффективность для предотвращения метастазирования рака молочной железы за счет влияния на опосредованную αv адгезию и пролиферацию клеток. Эффективными являются гибриды MRD, содержащие Герцептин®-2×Con4 (нацеленный на ErbB2 и Ang2), Герцептин®-V114 (нацеленный на ErbB2 и ФРЭС) и Герцептин®-RGD-4C-2×Con4 (нацеленный на ErbB2, Ang2 и интегрин).

Пример 5. Нацеленные на ФРЭС молекулы антитело-MRD.

Конструировали антитело, содержащее MRD, нацеленный на ФРЭС. MRD, нацеленный на v1 14 (SEQ ID NO: 13), присоединяли на N-конце к-цепи 38C2 и Герцептина® с применением линкера. При экспрессировании и тестировании полученных гибридных конструкций антитело-MRD наблюдалось выраженное связывание ФРЭС.

Пример 6. Нацеленные на рИФР-1 молекулы антитело-MRD.

Исследовали MRD, который нацелен на рИФР-1 (SFYSCLESLVNGPAEKSRG QWDGCRKK (SEQ ID NO: 14)), соединенный с N-концом к-цепи 38C2 и Герцептина® с длинной линкерной последовательностью в качестве соединительной части. При экспрессировании и тестировании полученных гибридных конструкций антитело-MRD наблюдалось выраженное связывание рИФР-1. Дополнительные клоны, проявляющие значительное связывание с рИФР-1, были идентифицированы за несколько циклов мутагенеза и скрининга областей, описанных в табл. 4. Предпочтительные последовательности, приведенные в табл. 5, связывают рИФР-1 и не демонстрируют значимого сродства либо демонстрируют отсутствие сродства к связыванию рецептора инсулина, таким образом предположительно обладая специфичностью в отношении рИФР-1.

Таблица 4

Матрица для последующего мутагенеза

Название	ДНК	АК
Rm2-2-218	GTGGAGTGCAGGGCGCCG (SEQ ID NO:50)	VECRAP (SEQ ID NO:51)
Rm2-2-316	GCTGAGTGCAGGGCTGGG (SEQ ID NO:52)	AECRAG (SEQ ID NO:53)
Rm2-2-319	CAGGAGTGCAGGACGGGG (SEQ ID NO:54)	QECRTG (SEQ ID NO:55)

Таблица 5

Мутант	Последовательность аминокислот	Матрица	SEQ ID NO
Rm4-31	NFYQCIEMLASHPAEKSRGQWQECRTGG	Rm2-2-319	35
Rm4-33	NFYQCIEQLALRPAEKSRGQWQECRTGG	Rm2-2-319	36
Rm4-39	NFYQCIDLLMAYPAEKSRGQWQECRTGG	Rm2-2-319	37
Rm4-310	NFYQCIERLVTGPAEKSRGQWQECRTGG	Rm2-2-319	38
Rm4-314	NFYQCIEYLAMKPAEKSRGQWQECRTGG	Rm2-2-319	39
Rm4-316	NFYQCIEALQSRPAEKSRGQWQECRTGG	Rm2-2-319	40
Rm4-319	NFYQCIEALSRSAPAEKSRGQWQECRTGG	Rm2-2-319	41
Rm4-44	NFYQCIEHLSGSPAEEKSRGQWQECRTG	Rm2-2-319	42
Rm4-45	NFYQCIESLAGGPAEKSRGQWQECRTG	Rm2-2-319	43
Rm4-46	NFYQCIEALVGVPAAEKSRGQWQECRTG	Rm2-2-319	44
Rm4-49	NFYQCIEMLSLPPAEKSRGQWQECRTG	Rm2-2-319	45
Rm4-410	NFYQCIEVFWGRPAEKSRGQWQECRTG	Rm2-2-319	46
Rm4-411	NFYQCIEQLSSGPAEKSRGQWQECRTG	Rm2-2-319	47
Rm4-415	NFYQCIELLSARPAEKSRGQ WAECRAG	Rm2-2-316	48
Rm4-417	NFYQCIEALARTPAEKSRGQWVECRAP	Rm2-2-218	49

Пример 7. Связывающие ErbB2 нацеленные на Ang2 молекулы антитело-MRD.

Конструировали антитело, содержащее MRD, который нацелен на Ang2 (L17) (SEQ ID NO: 7), соединенный с легкой цепью антитела, которое связывается с ErbB2. В качестве линкера использовали короткую линкерную последовательность, длинную линкерную последовательность или четвертую петлю в константной области легкой цепи. На фиг. 5 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкций, содержащих N-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD с антителом ErbB2 с коротким линкерным пептидом (GGGS (SEQ ID NO: 1)) (L17-sL-Her), C-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD с антителом к ErbB2 с коротким линкерным пептидом (Her-sL-L17), C-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD с антителом к ErbB2 с четвертой петлей в константной области легкой цепи (Her-lo-L17) или N-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD с антителом к ErbB2 с длинным линкерным пептидом (SSGGGSGGGGGGSSRSS (SEQ ID NO: 19)) (L17-1L-Her). ErbB2 в различной степени связывали все конструкции. Однако Ang2 связывали только Her-sL-L17 и L17-1L-Her.

Пример 8. Связывающие рецептор фактора роста гепатоцитов нацеленные на Ang2 молекулы антитело-MRD.

Гибрид MRD, который нацелен на Ang2 (L17) (SEQ ID NO: 7), получали соединением с N-концом либо C-концом легкой цепи антитела к Met, которое связывается с рецептором фактора роста гепатоцитов. В качестве соединительной части использовали короткую линкерную последовательность или длинную линкерную последовательность. На фиг. 6 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкций, содержащих N-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD с антителом к Met с коротким линкерным пептидом (GGGS (SEQ ID NO: 1)) (L17-sL-Met), N-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD с антителом к Met с длинным линкерным пептидом (SSGGGSGGGGGGSSRSS (SEQ ID NO: 19)) (L17-1L-Met) и C-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD с антителом к Met с длинным линкерным пептидом (Met-1L L17). При экспрессировании и тестировании полученных гибридных конструкций антитело-MRD наблюдалось значительное связывание ANG2 при использовании длинного линкерного пептида. Гибрид нацеленного на Ang2 MRD с C-концом легкой цепи антитела обеспечивал незначительно большее связывание с Ang2, чем гибрид нацеленного на Ang2 MRD с N-концом легкой цепи антитела.

Пример 9. Связывающие ErbB2 нацеленные на интегрин молекулы антитело-MRD.

Конструировали антитело, содержащее MRD, который нацелен на интегрин $\alpha\beta3$, (RGD4C) с последовательностью CDCRGDCFC (SEQ ID NO: 106), соединенный с легкой цепью антитела Герцептин®, которое связывается с ErbB2 (Her). В качестве линкера использовали короткую линкерную последовательность.

тельность, длинную линкерную последовательность или четвертую петлю в константной области легкой цепи. На фиг. 7 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкций, содержащих N-концевой гибрид нацеленного на интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$ MRD с антителом к ErbB2 с коротким линкерным пептидом (GGGS (SEQ ID NO: 1)) (RGD4C-sL-Her), C-концевой гибрид нацеленного на интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$ MRD с антителом к ErbB2 с коротким линкерным пептидом (Her-sL-RGD4C), C-концевой гибрид нацеленного на интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$ MRD с антителом к ErbB2 с четвертой петлей в константной области легкой цепи (Her-lo-RGD4C) или N-концевой гибрид нацеленного на интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$ MRD с антителом к ErbB2 с длинным линкерным пептидом (SSGGGGSGGGGGGSSRSS (SEQ ID NO: 19)) (RGD4C-1L-Her). ErbB2 в различной степени связывали все указанные конструкции. Однако интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$ связывал только RGD4C-1L-Her.

Пример 10. Связывающие рецептор фактора роста гепатоцитов нацеленные на интегрин молекулы антитело-MRD.

Конструировали антитело, содержащее MRD, который нацелен на интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$ (RGD4C) (SEQ ID NO: 106), соединенный с легкой цепью антитела, которое связывается с рецептором фактора роста гепатоцитов (Met). Использовали конструкции антитело-MRD, содержащие длинную линкерную последовательность. На фиг. 8 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкций, содержащих N-концевой гибрид нацеленного на интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$ MRD с антителом к рецептору фактора роста гепатоцитов (RGD4C-1L-Met) или C-концевой гибрид нацеленного на интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$ MRD с антителом к рецептору фактора роста гепатоцитов (Met-1L-RGD4C). RGD4C-1L-Met продемонстрировал выраженное связывание интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$.

Пример 11. Связывающие ErbB2 нацеленные на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 молекулы антитело-MRD.

Конструировали антитела, которые содержат MRD, который нацелен на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (RP) (SEQ ID NO: 14), соединенный с легкой цепью антитела, которое связывается с ErbB2 (Her). В качестве линкера использовали короткий линкерный пептид, длинный линкерный пептид или четвертую петлю в константной области легкой цепи. (Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285-4289 (1992); патент США № 5677171; № в банке ATCC 10463, каждый из перечисленных источников включен в настоящий документ посредством ссылки). На фиг. 9 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкций, содержащих N-концевой гибрид нацеленного на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD с антителом к ErbB2 с коротким линкерным пептидом (RP-sL-Her), C-концевой гибрид нацеленного на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD с антителом к ErbB2 и короткий линкерный пептид (Her-sL-RP), C-концевой гибрид нацеленного на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD с антителом к ErbB2 с четвертой петлей в константной области легкой цепи (Her-lo-RP), N-концевой гибрид нацеленного на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD с антителом к ErbB2 с длинным линкерным пептидом (RP-1L-Her) или C-концевой гибрид нацеленного на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD с антителом к ErbB2 с длинным линкерным пептидом (Her-1L-RP). ErbB2 в различной степени связывали все указанные конструкции. Рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 связывал RP-1L-Her.

Пример 12. Связывающие ErbB2 нацеленные на ФПЭС молекулы антитело-MRD.

Гибрид MRD, который нацелен на ФПЭС (VI 14) (SEQ ID NO: 13) (Fairbrother W.J, et al., Biochemistry 37:177754-177764 (1998)), получали путем соединения с N-концом легкой цепи связывающего ErbB2 антитела (Her). Линкерный пептид средней длины (SSGGGGSGGGGGGSS (SEQ ID NO: 2)) использовали в качестве соединительной части. На фиг. 10 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкции, содержащей N-концевой гибрид нацеленного на ФПЭС MRD со связывающим ErbB2 антителом с линкерным пептидом средней длины (VI 14-mL-Her). При экспрессировании и тестировании полученной гибридной конструкции антитело-MRD наблюдалось выраженное связывание ФПЭС и ErbB2.

Пример 13. Нацеленные на интегрин молекулы антитело-MRD.

Исследовали гибрид MRD, который нацелен на интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$ (RGD) (SEQ ID NO: 106), с N-концом легкой цепи 38C2 с применением линкерного пептида средней длины в качестве соединительной части. На фиг. 11 показано, что при экспрессировании и тестировании полученной гибридной конструкции антитело-MRD наблюдалось выраженное связывание интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$.

Пример 14. Нацеленные на Ang2 молекулы антитело-MRD.

Исследовали гибрид MRD, который нацелен на Ang2 (L 17) (SEQ ID NO: 7) с C-концом легкой цепи 38C2 с короткой линкерной последовательностью в качестве соединительной части. На фиг. 12 показано, что при экспрессировании и тестировании полученной гибридной конструкции антитело-MRD наблюдалось выраженное связывание ANG2.

Пример 15. Связывающие ErbB2 нацеленные на интегрин и Ang2 молекулы антитело-MRD.

MRD, который нацелен на интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$ (RGD4C), соединяли с N-концом легкой цепи нацеленного на ErbB2 антитела (Her) линкером средней длины, а нацеленный на Ang2 (L17) MRD был соединен коротким линкером с C-концом того же нацеленного на ErbB2 антитела (RGD4C-mL-Her-sL-L17). На

фиг. 13 показано, что полученная гибридная конструкция антитело-MRD связывается с интегрином, Ang2 и ErbB2.

Аналогичным образом, нацеленные на ErbB2 антитела (например, Her) с нацеленным на рИФР-1 MRD, соединенным с С-концом тяжелой цепи или N-концом легкой цепи, связывались с иммобилизованными рИФР-1 в сопоставимой степени. Кроме того, нацеленные на ErbB2 антитела содержащие нацеленный на рИФР-1 MRD, соединенный с N-концом легкой цепи, и нацеленный на Ang2 MRD, соединенный с С-концом тяжелой цепи, связывались с иммобилизованными рИФР-1 в сопоставимой степени. Каждая из указанных трех мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) также ингибировала связывание ИФР-1 с иммобилизованным рИФР-1. Триспецифическая молекула (Герцептин с нацеленными на рИФР-1 и Ang2 доменами MRD) связывалась как с ErbB2 на клеточной поверхности, так и с растворимым Ang2.

Пример 16. Связывающие ErbB2 нацеленные на интегрин молекулы антитело-MRD.

Конструировали антитело, содержащее MRD, который нацелен на интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$ (RGD4C), соединенный с N-концом тяжелой цепи антитела, которое связывается с ErbB2 (Her) с применением линкера средней длины в качестве соединительной части (RGD4C-mL-her-heavy). На фиг. 14 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением указанной конструкции. Указанная конструкция связывала как интегрин, так и ErbB2.

Пример 17. Связывающие ErbB2 или рецептор фактора роста гепатоцитов и связывающие интегрин, Ang2 или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 молекулы антитело-MRD с коротким линкерным пептидом.

Конструировали молекулы антитела-MRD, которые содержат связывающие ErbB2 или рецептор фактора роста гепатоцитов антитела, и связывающие интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$, Ang2 или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 области MRD соединяли коротким линкерным пептидом с легкой цепью указанного антитела. На фиг. 15 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкций, содержащих N-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD, соединенного с антителом к ErbB2 (L17-sL-Her), N-концевой гибрид нацеленного на интегрин MRD с антителом к ErbB2 (RGD4C-sL-Her), N-концевой гибрид нацеленного на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD со связывающим ErbB2 антителом (RP-sL-Her), С-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD со связывающим рецептор фактора роста гепатоцитов антителом (L17-sL-Met), С-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD со связывающим ErbB2 антителом (Her-sL-L17), С-концевой гибрид нацеленного на интегрин MRD со связывающим ErbB2 антителом (Her-sL-RGD4C) или С-концевой гибрид нацеленного на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD со связывающим ErbB2 антителом (Her-sL-RP). Указанные конструкции антитело-MRD в различной степени связывали ErbB2, за исключением конструкции, содержащей связывающее рецептор фактора роста гепатоцитов антитело. Антиген связывала только конструкция Her-sL-L17.

Пример 18. Связывающие ErbB2 или рецептор фактора роста гепатоцитов и связывающие интегрин, Ang2 или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 молекулы антитело-MRD с длинным линкерным пептидом.

Конструировали молекулы антитело-MRD, которые содержат связывающие ErbB2 или рецептор фактора роста гепатоцитов антитела и связывающие интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$, Ang2 или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD-области, соединенные длинным линкерным пептидом с легкой цепью указанного антитела. На фиг. 16 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкций, содержащих N-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD, соединенного с антителом к ErbB2 (L17-1L-Her), N-концевой гибрид нацеленного на интегрин MRD с антителом к ErbB2 (RGD4C-1L-Her), N-концевой гибрид связывающего рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD со связывающим ErbB2 антителом (RP-1L-Her), С-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD со связывающим рецептор фактора роста гепатоцитов антителом (L17-1L-Met), С-концевой гибрид нацеленного на интегрин MRD со связывающим рецептор фактора роста гепатоцитов антителом (RGD4C-1L-Met), С-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD со связывающим рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 антителом (Her-1L-RP), С-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD со связывающим рецептор фактора роста гепатоцитов антителом (Met-1L-L17) или С-концевой гибрид нацеленного на интегрин MRD со связывающим рецептор фактора роста гепатоцитов антителом (Met-1L-RGD4C). Как видно на фиг. 16, гибриды антитело-MRD эффективно связывают антиген и ErbB2. Lu et al., J. Biol. Chem. 20:280(20): 19665-19672 (2005); Lu et al., J. Biol. Chem.:279(4):2856-65 (2004).

Пример 19. Клонирование и экспрессия нацеленных на Ang2 доменов MRD, соединенных со связывающим мальтозу белком.

А. Клонирование гибридов MBP.

Мономерные и димерные пептиды экспрессировали в виде белковых гибридов со связывающим мальтозу белком (MBP) с применением модифицированной формы вектора pMAL-p2 и экспрессионной системы от New England Biolabs (NEB; Бевэрли, Массачусетс). Последовательность MRD, полученную с помощью ПЦР, встраивали в вектор pMAL в 3'-направлении от гена malE, кодирующего MBP. Это при-

водит к получению вектора, кодирующего гибридный белок MRD-MBP. Вектор pMAL содержит сильный промотор P_{tac}, индуцируемый ИПТГ. Серия pMAL-p2 содержит нормальную сигнальную последовательность malE, направляющую гибридный белок через цитоплазматическую мембрану. Гибридные белки pMAL-p2, способные экспортироваться, могут быть очищены из периплазмы с использованием осмотического шока. Может быть проведено дополнительно очищение, например, путем связывания на амилозной смоле.

В. Экспрессия гибридных белков MBP и фракционирование с использованием осмотического шока.

Для экспрессирования гибридных белков бактериальные культуры, культивированные в течение ночи, повторно разводили в свежей среде до OD 600, составляющей приблизительно 0,1. Культуры культивировали до достижения OD, составляющей приблизительно 0,8, и индуцировали ИПТГ в концентрации 0,3 мМ. Культуры инкубировали со встряхиванием в течение приблизительно 4 ч, после чего бактерии центрифугировали в течение 15 мин при 4700 g. Осажденные бактерии ресуспендировали в 30 мМ Tris-HCl, pH 7,4, 20% сахарозы, 1 мМ ЭДТК. Клетки инкубировали в течение 20 мин при комнатной температуре (КТ) перед центрифугированием в течение 15 мин при 4700 g. Осажденные бактерии затем ресуспендировали в ледяном MgSO₄ и инкубировали в течение 20 мин на льду с периодическим перемешиванием. Суспензии клеток обрабатывали ультразвуком (Misonix XL2020) в течение 90 с. Клетки центрифугировали при 4°C в течение 20 мин при 4700 g. Супернатант ("выделенную под действием осмотического шока фракцию") доводили до концентрации 1×ФСБ с применением 10×ФСБ (Quality Biologies, кат. № 119-069-131) и фильтровали через фильтр с размером пор 0,2 мкм. Указанные выделенные под действием осмотического шока фракции прямо анализировали на связывание с Ang2.

С. Прямое связывание гибридных белков MBP.

Для детекции прямого связывания гибридов MRD-MBP с Ang2 проводили описанный ниже ИФА ELISA. 96-Луночные планшеты покрывали в течение ночи rhAng2 (R&D, кат. № 623-AN) в концентрации 320 нг/мл (100 мкл/лунку). Лунки блокировали в течение 3,25 ч 250 мкл блокирующего буфера (Thermo, кат. № N502), с последующим 4-кратным промыванием 300 мкл промывочного буфера (ФСБ, 0,1% TWEEN). Гибридные белки MBP серийно разводили в блокирующем буфере и добавляли в лунки в течение 2 ч при комнатной температуре. После промывания (8×300 мкл промывочного буфера) образцы обрабатывали HRP-конъюгированным моноклональным антителом мыши против MBP (NEB, кат. № E8038S), разводили в блокирующем буфере 1:4000. После инкубирования в течение 1 ч при комнатной температуре лунки промывали (8×300 мкл промывочного буфера) перед добавлением 100 мкл субстрата TMB (KPL Laboratories). Развитие цвета останавливали 100 мкл H₂SO₄ и считывали поглощение при 450 нм.

Д. Результаты.

Гибриды MRD-MBP анализировали на прямое связывание с Ang2. Выделенные под действием осмотического шока фракции индуцированных бактериальных культур серийно разводили и добавляли в покрытые Ang2 лунки. Связанные гибридные белки детектировали моноклональным антителом против MBP. Кривые зависимости "доза-эффект" представлены на фиг. 17А. Анализируемые белки представляют мутантные варианты последовательности MGAQTNFMPMDDDELLLYEQFILQQGLE (L17D) (SEQ ID NO: 107). В этой серии мотив MDD в пределах L17D был мутирован по первому D, который заменяли на все другие возможные аминокислоты (кроме цистеина). Другие протестированные домены MRD представляли собой "Lm32 KtoS" и димер Lm32 (2×Lm32). Как показано на фиг. 17В, несколько мутантов MXD демонстрировали связывание в диапазоне от 0,1 до 100 нм.

Димер Lm32 (2XLm32) проявляет более чем 10-кратно более высокое сродство к Ang2, чем любой из L17D или "Lm32 KtoS".

Пример 21. Экспрессия и очищение антител, содержащих домены MRD.

Домены молекулярного распознавания конструировали и экспрессировали в векторе pcDNA 3.3 в виде гибридных белков с тяжелыми или легкими цепями антител. Для получения белка плазмидными ДНК, кодирующими тяжелые и легкие цепи антитела, содержащего домены MRD, сначала трансформировали химически компетентные бактерии для продуцирования больших количеств ДНК для транзientной трансфекции. Одиночные трансформанты размножали в среде LB и очищали с применением наборов для выделения плазмид без эндотоксинов от Qiagen. Вкратце, лизировали клетки ночной культуры; лизаты очищали и наносили на анионообменную колонку, затем проводили этап промывания и элюировали концентрированным солевым раствором. Плазмиды осаждали, промывали и ресуспендировали в стерильной воде.

Клетки НЕК 293Т размножали до требуемого конечного объема партии (приблизительно 5 л) до трансфекции. Получали комплекс очищенной плазмиды (1 мг на 1 л продукта) с реагентом для трансфекции полиэтиленимином (ПЭИ), добавляли в культуру в качалочной колбе и инкубировали при 37°C. Ежедневно проводили мониторинг культуры, отслеживая число клеток, диаметр клеток и жизнеспособность. Кондиционированную среду собирали и хранили при -80°C до очищения.

Антитела, содержащие домены MRD, очищали из кондиционированной среды с применением аффинной хроматографии. Культуральный супернатант очищали фильтрацией и наносили прямо на хрома-

тографическую колонку, содержащую сефарозу с рекомбинантным белком А (GE Healthcare). Колонку промывали и связанные антитела, содержащие домены MRD, элюировали понижением pH буфера. После элюции pH фракций элюата немедленно доводили до физиологических значений. После аффинного очищения с белком А при необходимости может быть проведен дополнительный необязательный этап тонкой хроматографической очистки.

Очищенные белки диализуют в ФСБ, концентрируют до ~1-4 мг/мл, стерилизуют фильтрацией, разделяют на аликвоты в асептических условиях и хранят в замороженной виде при -80°C. На всех этапах очищения проводят мониторинг с применением ДСН-ПААГ-Кумасси и принимают меры для поддержания уровней эндотоксина во время очищения на минимальном возможном уровне.

Конечный продукт анализировали на уровне эндотоксина (EndoSafe), чистоту (ДСН-ПААГ-Кумасси, аналитическая эксклюзионная ВЭЖХ), идентичность белков (вестерн-блоттинг) и выход белков (анализ по Бредфорду). Дополнительный анализ с применением эксклюзионной ВЭЖХ проводили для оценки уровня агрегатов.

Данные, представленные в табл. 6, указывают на то, что антитела, содержащие домены MRD, могут быть экспрессированы и очищены с применением стандартных техник.

Таблица 6

Антитело Zybody	Выход (мг)	Чистота	Агрегаты (%)	Эндотоксин (ЕЭ/мл)
HER2×Con4(H)	36	>90%	4,6	<1
HER-lm32(H)	57	>90%	1	2,02
HER-lm32(L)	98	>90%	2	3,26
AVA-lm32(H)	12	>90%	0	<1

Пример 22. Одновременное связывание HER Lm32(H) и HER Lm32(L) с Her2 и Ang2.

А. Методы.

96-луночные планшеты покрывали в течение ночи rHER2-Fc (R&D, кат. № 1129-ER-050) в концентрации 20 нг/мл (100 мкл/лунку). Лунки блокировали в течение 3,25 ч 250 мкл блокирующего буфера (Thermo, кат. № N502), с последующим 4-кратным промыванием 300 мкл промывочного буфера (ФСБ, 0,1% TWEEN). Антитела, содержащие домены MRD (HER-lm32(H), HER-lm32(L) и AVA-lm32(H)), и антитела (Герцептин®), серийно разводили в блокирующем буфере, содержащем 1,94 мкг/мл биотинилированного Ang2 (R&D, кат. № BT633), и добавляли в лунки в течение 2 ч при комнатной температуре. После промывания (8×300 мкл промывочного буфера) к параллельным образцам добавляли либо конъюгированное с HRP моноклональное антитело против цепи к человека (Abcam, кат. № ab79115-1), разведенное 1:1000 в блокирующем буфере, или конъюгированный с HRP стрептавидин (Thermo Scientific, кат. № N100), разведенный 1:4000 в блокирующем буфере. После инкубирования в течение 1 ч при комнатной температуре лунки промывали (8×300 мкл промывочного буфера) перед добавлением 100 мкл субстрата TMB (KPL Laboratories). Развитие цвета останавливали 100 мкл H₂SO₄ и считывали поглощение при 450 нм.

В. Результаты.

Как было обнаружено на основании детекции с моноклональным антителом против цепи к человека как антитело на основе Герцептина®, так и содержащие домены MRD антитела на основе Герцептина® дозозависимым образом связываются с Her2 Fc в присутствии Ang2 (фиг. 18А). Только антитела на основе Герцептина®, содержащие домены MRD (HER-lm32(H) и HER-lm32(L)), демонстрировали одновременное связывание с Her2 Fc и Ang2, как обнаружено на основании детекции с конъюгированным с HRP стрептавидином (фиг. 18В).

Пример 23. Одновременное связывание AVA-lm32(H) с ФРЭС и Ang2.

А. Методы.

96-Луночные планшеты покрывали ФРЭС человека в течение ночи (PeproTech, Inc. кат. № 100-20) в концентрации 30 нг/мл (100 мкл/лунку). Лунки блокировали в течение 3,25 ч 250 мкл блокирующего буфера (Thermo, кат. № N502) с последующим 4-кратным промыванием 300 мкл промывочного буфера (ФСБ, 0,1% TWEEN). Антитела, содержащие домены MRD (HER-lm32(H) и AVA-lm32(H)) и антитела (Авастин®), серийно разводили в блокирующем буфере, содержащем 3,876 мкг/мл биотинилированного Ang2 (R&D, кат. № BT633), и добавляли в лунки в течение 2 ч при комнатной температуре. После промывания (8×300 мкл промывочного буфера) к параллельным образцам добавляли либо конъюгированное с HRP моноклональное антитело против цепи к человека (Abcam, кат. № ab79115), разведенное 1:1000 в блокирующем буфере, либо конъюгированный с HRP стрептавидин (Thermo Scientific, кат. № N100), разведенный 1:4000 в блокирующем буфере. После инкубирования в течение 1 ч при комнатной температуре лунки промывали (8×300 мкл промывочного буфера) перед добавлением 100 мкл субстрата TMB (KPL Laboratories). Развитие цвета останавливали 100 мкл H₂SO₄ и считывали поглощение при 450 нм.

В. Результаты.

Как обнаружено на основании детекции с моноклональным антителом против цепи к человека, как Авастин®, так и антитела на основе Авастина®, содержащие домены MRD, дозозависимым образом связываются с ФРЭС в присутствии Ang2 (фиг. 19А). Только антитела на основе Авастина®, содержащие домены MRD (AVA-lm32(H)), демонстрировали одновременное связывание с ФРЭС и Ang2, как обнаружено на основании детекции с конъюгированным с HRP стрептавидин (фиг. 19В).

Пример 24. Одновременное связывание HER-lm32(H) и HER-lm32(L) с HER2 и ангиопоэтином-2.

Способность HER-lm32(H) и HER-lm32(L) одновременно связываться с Her2, экспрессируемым на поверхности клеток карциномы молочной железы BT-474, и с Ang2 в растворе определяли с применением проточной цитометрии. ФИТЦ-конъюгированные антитела мыши против Ig человека использовали для детекции тяжелой цепи антител, содержащих домены MRD, и Ang2-биотин/стрептавидин-ФЭ использовали для детекции MRD lm32. Клетки, которые связывают Her2 и Ang2, одновременно предположительно детектируются как двойные положительные по ФИТЦ- и ФЭ-флуоресценции.

1 млн HER2-положительных клеток карциномы молочной железы BT-474 инкубировали с 1 мкг HER-lm32(H) или HER-lm32(L) в течение 25 мин при комнатной температуре. После промывания клетки инкубировали с 200 нг/мл Ang2-биотина (R&D Systems) в течение 25 мин при комнатной температуре, а затем с 20 мкл ФИТЦ-конъюгированных антител мыши против Ig человека и стрептавидина-ФЭ в течение 15 мин. После промывания 2 мл буфера клетки анализировали путем проточной цитометрии (FACS Canto II, BD).

Для подтверждения специфичности связывания HER-lm32(H) и HER-lm32(L) с HER2 на клетках BT-474 определяли связывание в присутствии 10-кратного избытка Герцептина®. В данных экспериментах антитела, содержащие домены MRD (1 мкг), инкубировали с 1 млн клеток BT-474 в отсутствие или в присутствии 10 мкг Герцептина® в течение 25 мин при комнатной температуре. Связывание антител, содержащих домены MRD, с HER2 определяли путем инкубирования с 200 нг/мл Ang2-биотина с последующей детекцией со стрептавидином-ФЭ.

Данные, представленные на фиг. 20А демонстрируют, что и HER-lm32(H), и HER-lm32(L) связывают одновременно и HER2, и Ang2. В обоих случаях наблюдалась яркая двойная флуоресценция клеток в каналах флуоресценции ФИТЦ и ФЭ. Тот факт, что Герцептин® полностью ингибировал связывание HER-lm32(H) и HER-lm32(L) с HER2 (фиг. 20В), указывает на специфичность связывания.

Кроме того, триспецифическое связывание было продемонстрировано с применением антитела, содержащего два отдельных домена MRD. Связывающее рЭФР антитело Affibody и связывающий Ang2 пептид (LM32) соединяли с С-концом легкой и тяжелой цепей Герцептина соответственно. Указанное MRD-содержащее антитело инкубировали с рЭФР+ клеточной линией эпителия человека Her2-A431. Связанное клетками MRD-содержащее антитело детектировали биотинилированным Ang2/стрептавидином-ФЭ, меченым Alexafluor ErbB2-Fc или комбинацией Ang2/стрептавидина-ФЭ и меченого Alexafluor ErbB2-Fc. Результаты продемонстрировали, что указанное MRD-содержащее антитело одновременно связывало рецептор рЭФР клеточной поверхности и два растворимых лиганда (ErbB2 и Ang2).

Дополнительные эксперименты продемонстрировали, что гибрид lm32 с С-концом тяжелой цепи Герцептина сохранял специфичность связывания и функцию Fc Герцептина. Герцептин и гибрид Герцептин-lm32 связывались с FcRn с аналогичным сродством (значения EC_{50} для Герцептина и Герцептина-lm32 составляли 2,17 и 2,84 мкг/мл соответственно). Герцептин и гибрид Герцептин-lm32 проявляли сопоставимую АЗКЦ-активность в отношении клеток SK-BR-3. Гибрид Герцептин-lm32 и Герцептин связывались с Fcγ-RI и Fcγ-RIII с аналогичным сродством. Гибрид Герцептин-lm32 и Герцептин связывались с рецептором комплемента C1q с аналогичным сродством. Кроме того, гибрид Герцептин-lm32 связывал Ang2 с субнаномолярным сродством и оказывали антагонистический эффект на связывание ANG2 с рецептором Tie-2. Гибрид Герцептин-lm32 связывал внеклеточный домен ErbB2 и также ингибировал индуцированную Ang2 пролиферацию первичных бычьих лимфоэндотелиальных клеток. Гибрид Герцептин-lm32 и Герцептин связывались с внеклеточным доменом Her2 с аналогичными кинетическими показателями. Дополнительные эксперименты продемонстрировали, что гибрид Герцептин-lm32 был настолько же эффективен, как и Герцептин для ингибирования пролиферации нескольких культивируемых клеточных линий рака молочной железы (BT-474, MDA-MB-361 и SK-BR-3). На антипролиферативный эффект гибрида Герцептин-lm32 на клетки SK-BR-3 не влияло присутствие Ang2 (2 мкг/мл) в культуре.

Одновременное связывание мишени наблюдалось и для других мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител). Например, гибрид lm32, соединенного с С-концом тяжелой цепи антитела Хумира (HUM-lm32(H)), был способен одновременно связываться с Ang2 и ФНО-α. Тот же гибрид был способен связывать клетки 293, транзигентно трансфицированные полноразмерным ФНО-α человека, со сродством, аналогичным сродству антитела Хумира. HUM-lm32(H) также был способен ингибировать взаимодействие ФНО с его рецепторами. HUM-lm32(H) также связывался с экспрессируемым на клеточной поверхности и связанным на планшетах FcRn, а также с Fcγ-RI и Fcγ-RIII.

Пример 25. Антитела с доменами MRD, содержащие гибриды с тяжелыми цепями, связываются с мишенями.

Для оценки способности Im32-содержащих антител блокировать взаимодействие Ang2 с его рецептором TIE2, определяли с применением ИФА ELISA их эффект на связывание растворимого TIE2 со связанным на планшетах Ang2.

Покрывали 96-луночный планшет (Thermo Electron, кат. № 3855) Ang2 (R&D Systems, кат. № 623-AN) в концентрации 200 нг/мл в ФСБ в течение ночи при 4°C. Затем планшет инкубировали с 100 мкл блокирующего раствора (Thermo Scientific, кат. № N502) в течение 1 ч при комнатной температуре. После 4-кратного промывания планшета 0,1% TWEEN-20 в ФСБ связанный на планшете Ang2 инкубировали с 0,5 мкг/мл растворимого TIE2 (R&D Systems, кат. № 313-TI) в отсутствие или в присутствии различных концентраций серийно разведенного антитела, содержащего домены MRD, в течение 1 ч при комнатной температуре. После 4-кратного промывания добавляли 100 мкл антитела против TIE2 в концентрации 0,5 мкг/мл (кат. № BAM3313, R&D Systems) и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. Связывание TIE2 с Ang2 детектировали путем инкубирования с разведенным 1:1000 антителом козы против АТ мыши, конъюгированным с HRP (BD Pharmingen, кат. № 554002) в течение 1 ч при комнатной температуре. Планшет промывали 4-кратно и инкубировали с 100 мкл реагента ТМВ на протяжении 10 мин при комнатной температуре. После прекращения реакции 100 мкл 0,36N H₂SO₄ планшет считывали при 450 нм с применением спектрофотометра.

Как видно на фиг. 21А, HER-Im32(H), HER-Im32(L) и AVA-Im32(H) ингибировал связывание TIE2 со связанным на планшете Ang2 дозозависимым образом. Все протестированные Im32-содержащие антитела продемонстрировали сопоставимые ингибирующие эффекты со значениями IC₅₀, составляющими 4 нМ для HER-Im32(H), 8 нМ для HER-Im32(L) и 3,3 нМ для AVA-Im32(H).

Пример 26. Антитела с доменами MRD, содержащие гибриды с тяжелыми цепями, связываются с мишенями.

Для определения специфичности и относительного сродства к связыванию AVA-Im32(H) с ФРЭС проводили конкурентный анализ связывания с применением меченого биотином Авастина®.

Авастином®, меченым биотином с применением EZ-Link NHS-LC-биотин (Pierce, кат. № 21336), ФРЭС (Reprotech, кат. № 100-20), покрывали 96-луночный планшет (Thermo Electron, кат. № 3855) в концентрации 100 нг/мл в ФСБ в течение ночи при 4°C. Затем планшет инкубировали с 100 мкл блокирующего раствора (Thermo Scientific, кат. № N502) в течение 1 ч при комнатной температуре. После 4-кратного промывания планшета 0,1% TWEEN 20 в ФСБ, добавляли 50 мкл а®-биотина в концентрации 150 нг/мл и по 50 мкл AVA-Im32(H) или немеченого Авастина® в различных концентрациях и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. Планшет промывали 4-кратно и инкубировали со стрептавидином-HRP (Thermo, кат. № N100) в разведении 1: 1000 в течение 1 ч при комнатной температуре. Планшет промывали 4-кратно и добавляли 100 мкл реагента ТМВ. После 10 мин инкубирования при комнатной температуре добавляли 100 мкл 0,36N H₂SO₄ для остановки реакции и считывали планшет при 450 нм.

Данные, представленные на фиг. 22, демонстрируют, что AVA-Im32(H) специфически связывается с ФРЭС-2. Он ингибирует связывание биотинилированного Авастина® с ФРЭС дозозависимым образом. Кривые зависимости "доза-эффект", полученные для AVA-Im32(H) и немеченого Авастина®, совпадают при наложении и указывают на аналогичные показатели сродства к связыванию.

Пример 27. Связывание HER-Im32(H) и HER-Im32(L) с HER2, экспрессируемым на клетках рака молочной железы.

Для определения относительного сродства антител на основе Герцептина®, содержащих домены MRD, к связыванию HER2 на клеточной поверхности по сравнению с Герцептином® проводили конкурентный анализ связывания с Eu-меченым Герцептином®.

Герцептин® метили Eu3+ с применением набора для мечения европием (Perkin Elmer Life Sciences, кат. № 1244-302) в системе диссоциативно-усиленного лантанидного флуоресцентного иммуноанализа (DELFA), следуя инструкциям производителя. Агент для мечения представляет собой хелат Eu и N1-(п-изотиоцианатбензил)диэтилентриамин-N1, N2, N3, N3-тетрауксусной кислоты (DTTA). Группа DTTA образует стабильный комплекс с Eu3+, и изотиоцианатная группа вступает в реакцию с аминокетонами белка при щелочных показателях pH с образованием стабильной ковалентной тиомочевинной связи. Герцептин® (0,2 мг в 200 мл натрий-бикарбонатного буфера, pH 9,3) метили 0,2 мг агента для мечения при 4°C в течение ночи. Меченый Eu Герцептин® очищали на спин-колонке с применением 50 ммоль/л трис-HCl, pH 7,5 и 0,9% NaCl в качестве элюирующего буфера.

Анализ связывания Eu-Герцептина® проводили путем инкубирования 0,5-1 млн клеток BT-474 или SK-BR3 рака молочной железы на лунку в 96-луночном планшете с 2-5 нМ Eu-Герцептина® в присутствии различных концентраций немеченых антител на основе Герцептина®, содержащих домены MRD, или Герцептина®, в течение 1 ч при комнатной температуре. Несвязанный Eu-Герцептин® удаляли, промывая 200 мкл полной среды. Затем клетки ресуспендировали в 100 мкл полной среды, и 80 мкл суспензии клеток переносили в 96-луночный планшет IsoPlate. Клетки инкубировали с 100 мкл раствора

DELFIA Enhancer при комнатной температуре на протяжении 10 мин и связанный клетками Eu-Герцептин® детектировали с помощью Envision (Perkin Elmer).

Ингибирование кривых связывания, полученных с применением клеток BT-474, показано на фиг. 23. Герцептин® и антитела на основе Герцептина®, содержащие домены MRD, дозозависимым образом ингибировали связывание Eu-Герцептина® с BT-474. Наблюдались сопоставимые значения IC₅₀: 4,7 нМ для HER-Im32(H), 5,7 нМ для HER-Im32(L) и 3,7 нМ для немеченого Герцептина®.

Пример 28. Ингибирование пролиферации клеток рака молочной железы содержащими домены MRD антителами на основе Герцептина®.

Чувствительные к Герцептину клетки рака молочной железы SK-BR-3, экспрессирующие рецептор HER2neo, также тестировали в биологическом анализе. Клетки SK-BR-3 (2000 клеток/лунку) высевали в 96-луночные планшеты (Costar) с полной ростовой средой Маккоя, содержащей 2 мМ глутамин, пенициллин/стрептомицин (Invitrogen) и 10% ФБС (HyClone). Клетки культивировали в течение 24 ч при 37°C, 5% CO₂, 85% влажности. На следующий день ростовую среду заменяли на голодную среду (среда Маккоя с 2 мМ глутамином, пенициллином/стрептомицином, 0,5% ФБС). Получали девять серийных разведений (диапазон концентраций: 5000-7,8 нг/мл) Герцептина® и антител на основе Герцептина®, содержащих домены MRD, в полной ростовой среде. Через 24 ч инкубирования голодную среду удаляли и серийные разведения Герцептина® и антитела на основе Герцептина®, содержащего домены MRD, переносили в планшеты в трех повторностях. Клетки культивировали в течение 6 дней. Пролиферацию количественно определяли с применением люминесцентного анализа CellTiter Glo.

С применением четырехпараметрической логистической модели были определены следующие значения IC₅₀: 0,49±0,17 нМ для HER-Im32(H), 0,81±0,19 нМ для HER-Im32(L) и 0,67±0,15 нМ для HER-con4(H). Все протестированные антитела на основе Герцептина®, содержащие домены MRD, были способны ингибировать пролиферацию клеток карциномы молочной железы SK-BR-3 с субнаномолярными значениями IC₅₀. Репрезентативные аппроксимированные кривые зависимости "доза-эффект", приведенные на фиг. 24А-С, демонстрируют, что антитела на основе Герцептина®, содержащие домены MRD, ингибируют пролиферацию клеток с активностью, аналогичной активности Герцептина®.

Пример 29. Антителозависимая цитотоксичность содержащих домены MRD антител на основе Герцептина®.

Для оценки способности антител, содержащих домены MRD, опосредовать АЗКЦ in vitro использовали анализ цитотоксичности на основе набора реагентов "DELFLA EUTDA Cytotoxicity reagents AD0116" (PerkinElmer). В указанном анализе целевые клетки метили гидрофобным усиливающим флуоресценцию лигандом (BADTA, бис(ацетоксиметил)-2,2':6',2"-терпиридин-6,6"-дикарбоксилатом). После проникновения в клетки BADTA превращается в гидрофильное соединение (TDA, 2,2':6',2"-терпиридин-6,6"-дикарбоновую кислоту) за счет опосредованного цитоплазматическими эстеразами расщепления и уже не способен пересекать мембрану. После лизиса клеток TDA высвобождается в среду, содержащую раствор Eu³⁺, с образованием флуоресцентного хелата (EuTDA). Интенсивность флуоресценции прямо пропорциональна числу лизированных клеток.

Герцептин® и антитела на основе Герцептина®, содержащие домены MRD, могут опосредовать АЗКЦ на HER2-положительных клетках рака молочной железы посредством связывания с рецептором HER2 на поверхности целевых клеток и активации эффекторных клеток, присутствующих в ПМКК человека, за счет взаимодействия с их рецепторами FcγRIII. Для демонстрации этого в анализе АЗКЦ использовали НЕК2-положительную клеточную линию SK-BR-3 рака молочной железы человека в качестве целевой клеточной линии.

Клетки SK-BR-3 разъединяли 0,05% трипсин-версеном и ресуспендировали с плотностью 1×10⁶ клеток/мл в среде RPMI1640, содержащей 2 мМ глутамин, пенициллин/стрептомицин и 10% ФБС (полная ростовая среда). 2×10⁶ клеток в 2 мл среды переносили в 15 мл пробирку и добавляли 10 мкл реагента BADTA.

Суспензию клеток аккуратно перемешивали и помещали в термостат с температурой 37°C, 5% CO₂ и 85% влажностью на 15 мин. При мечении клеток получали 7 10× серийных разведений, начиная в концентрации 5 мкг/мл Герцептина® или антител на основе Герцептина®, содержащих домены MRD.

После инкубирования с BADTA клетки 4-кратно промывали в полной ростовой среде, содержащей 2,5 мМ пробенецид. Между промывками клетки осаждали центрифугированием при 1000 об/мин в течение 3 мин. После последней промывки меченые клетки SK-BR-3 ресуспендировали в 10 мл полной ростовой среды и добавляли по 50 мкл клеток в каждую лунку 96-луночного планшета, кроме фоновых лунок. В заданные лунки добавляли по 50 мкл серийных разведений Герцептина® или антител на основе Герцептина®, содержащих домены MRD. Планшеты перемещали в термостат при 37°C, 5% CO₂ и 85% влажности на 30 мин.

МКПК, выделенные из периферической крови человека за сутки до анализа АЗКЦ, промывали однократно в RPMI1640 с 2 мМ глутамином, пенициллином/стрептомицином, 10% ФБС. Получали 10 мл суспензии МКПК с плотностью клеток 2,5×10⁶ клеток/мл. 100 мкл суспензии МКПК переносили в лунки,

содержащие целевые клетки и Герцептин® или антитела на основе Герцептина®, содержащие домены MRD, в трех повторностях. В заданные лунки помещали следующие контрольные составы: спонтанное высвобождение (целевые клетки без эффекторных клеток), максимальное высвобождение (лизированные целевые клетки) и фон (среда без клеток). Планшеты инкубировали в течение 2,5 часов в термостате при 37°C, 5% CO₂ и 85% влажности.

После инкубирования 20 мкл супернатанта переносили в другой планшет и добавляли 200 мкл раствора европия. Планшеты инкубировали на планшетном шейкере при комнатной температуре в течение 15 мин. Разрешенную во времени флуоресценцию измеряли с применением ридера PerkinElmer EnVision 2104 Multilabel Reader.

Для расчета процента специфического высвобождения использовали следующую формулу:

Экспериментальное высвобождение (число импульсов) - Спонтанное высвобождение (число импульсов) × 100.

Максимальное высвобождение (число импульсов) - Спонтанное высвобождение (число импульсов).

С применением четырехпараметрической логистической модели были определены следующие значения IC₅₀: 0,213±0,077 нМ для HER-Im32(H), 07204±0,036 нМ для HER-Im32(L) и 0,067±0,015 нМ для HER-con4(H). Все протестированные антитела, содержащие домены MRD, продемонстрировали выраженную АЗКЦ-активность при субнаномолярных значениях IC₅₀. Репрезентативные аппроксимированные кривые зависимости "доза-эффект", приведенные на фиг. 25А и 25В, демонстрируют, что антитела, содержащие домены MRD, способны опосредовать клеточно-зависимую цитотоксичность с активностью, сопоставимой с активностью Герцептина®.

Аналогичный эксперимент проводили в присутствии Ang2. МКПК человека активировали 20 нг/мл ИЛ-2 в течение ночи и добавляли к свежевысеянному (10000 клеток/лунку) меченым BADTA клеткам SK-BR-3. Соотношение эффекторы/мишень составляло 25/1. Через 4 ч инкубирования с серийными разведениями HER-Im32(H) или Хумира в присутствии 2 мкг/мл Ang2 в среду добавляли Eu и измеряли флуоресценцию с разрешением по времени (TRFI) на ридере Envision (Perkin-Elmer). HER-Im32 более активно опосредовал АЗКЦ в присутствии Ang2.

Пример 30. Ингибирование пролиферации эндотелиальных клеток AVA-Im32(H).

Тестировали биологическую активность антител на основе Авастина®, содержащих домены MRD AVA-Im32(H), для определения их способности ингибировать индуцируемую ФРЭС пролиферацию эндотелиальных клеток пупочной вены человека (ЭКПВЧ).

Клетки ЭКПВЧ 1 и 3 пассажа, соответственно, получали от GlycoTech (Гейтерсберг, Мэриленд) и Lonza. Клетки культивировали на базовой среде для эндотелиальных клеток (EBM-2) с добавлением 2% фетальной бычьей сыворотки (ФБС) и Single Quotes (Lonza) при 37°C, 5% CO₂, 85% влажности. Для экспериментов с ингибированием пролиферации клетки высевали в 96-луночные планшеты (Costar) с плотностью 2000 клеток на лунку в среду EBM-2 с 2% ФБС и культивировали в течение 24 ч. Получали девять серийных разведений Авастина® или AVA-Im32(H), начиная с 5 мкг/мл, на среде EBM-2 с 2% ФБС. Во все серийные разведения добавляли ФРЭС (R&D Systems) в конечной концентрации 10 нг/мл. После инкубирования в течение 15 мин при 37°C, 5% CO₂, 85% влажности, серийные разведения добавляли к клеткам. Через 96 ч к клеткам добавляли CellTiter Glo. После инкубирования при комнатной температуре в течение 15 мин суспензию клеток переносили в 96-луночные белые непрозрачные планшеты и измеряли люминесценцию с применением ридера PerkinElmer EnVision 2104 Multilabel Reader. Как видно на фиг. 26А и 26В, AVA-Im32(H) демонстрировал дозозависимую антипролиферативную активность в отношении клеток ЭКПВЧ из обоих источников. Значения IC₅₀, рассчитанные на основе аппроксимированных 4-параметрической логистической моделью кривых, указывают на аналогичную активность AVA-Im32(H) и Авастина® (значения IC₅₀ составляли 0,36±0,42 нМ и 0,33±0,38 нМ соответственно).

Пример 31. MRD-содержащие антитела ингибируют пролиферацию опухоли *in vivo*.

Для определения эффективности мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) *in vivo*, оценивали их эффективность в модели опухоли Colo5 на мышах. В данных экспериментах опухоли имплантировали на правый бок шестинедельных самок бестимусных мышей nude путем инъекции 5×10⁶ клеток Colo205, суспендированных в 100 мкл ФСБ. Животным в трех группах, по восемь животных каждая, внутрибрюшинно инъецировали по 5 мг/кг антитела (Герцептин, Rituxan) или MRD-содержащее антитело (HER-2×Con4; "H2×Con4") в 100 мкл ФСБ раз в три дня, начиная на 6 день после имплантации опухоли. Результаты, представленные на фиг. 27, демонстрируют, что MRD-содержащее антитело более эффективно ингибировало рост опухоли, чем Ритуксимаб® или Герцептин®.

Герцептин с Im32, присоединенным к С-концу тяжелой цепи, также ингибировал рост опухоли в моделях как Her2-зависимых, так и зависимых от ангиогенеза ксенотрансплантированных опухолей. Фармакокинетика гибрида Герцептин-Im32 была аналогичная ФК Герцептина у мышей и у обезьян после однократных инъекций. Кроме того, гибрид Герцептин-Im32 сохранял стабильность в цельной крови до 72 ч при 37°C.

Пример 32. Молекулярные анализы для оценки MRD-содержащих антител.

Новые мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) получают путем изменения последовательности MRD и/или антитела, путем изменения локализации, в которой антитело соединено с MRD, и/или путем изменения линкера, посредством которого MRD соединен с антителом. Связывающий потенциал, структуру и функциональные характеристики указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) оценивают с применением известных техник измерения связывания и функции белков. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) сравнивают с MRD по отдельности, антителом по отдельности и с другими мультивалентными и мультиспецифическими композициями (например, MRD-содержащими антителами).

MRD-содержащее антитело тестируют с применением твердофазного анализа, в котором мишень MRD и/или антитело иммобилизуют на твердой поверхности и затем подвергают воздействию возрастающих концентраций флуоресцентно меченого MRD-содержащего антитела. Твердую поверхность промывают для удаления несвязанного MRD-содержащего антитела и прямо определяют количество связанного с мишенью MRD-содержащего антитела путем количественного определения флуоресценции. В другом эксперименте иммобилизованную мишень подвергают воздействию возрастающих концентраций немеченого MRD-содержащего антитела и количество связанного с мишенью MRD-содержащего антитела определяют непрямо с применением меченого реагента, который связывается с MRD-содержащим антителом.

MRD-содержащее антитело тестируют с применением жидкофазного анализа, в котором мишень MRD и/или антитела добавляют в раствор с различными концентрациями MRD-содержащего антитела. Взаимодействие мишени с MRD-содержащим антителом детектируют по появлению молекулярного комплекса, состоящего из мишени и MRD-содержащего антитела, отличающегося молекулярной массой (и подвижностью) от несвязанной мишени и несвязанного MRD-содержащего антитела.

MRD-содержащее антитело также анализируют с применением клеточного анализа, в котором экспрессирующие мишень клетки инкубируют в присутствии возрастающих концентраций MRD-содержащего антитела. Связывание MRD-содержащего антитела детектируют путем сортировки клеток с активированной флуоресценцией. Кроме того, оценивают клеточную пролиферацию, клеточную дифференцировку, фосфорилирование белков, экспрессию белков, экспрессию мРНК, состав мембран, активность сигнальных путей и жизнеспособность клеток.

Подходящие мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связываются и с мишенью MRD, и с мишенью антитела. Кроме того, подходящие мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) влияют по меньшей мере на один клеточный процесс.

Пример 33. Идентификация доменов MRD с улучшенными характеристиками.

В LM32 были идентифицированы два потенциальных Т-клеточных эпитопа. Для идентификации вариантов LM32, которые не содержат Т-клеточных эпитопов и, соответственно, с меньшей вероятностью вызывают иммунный ответ, получали варианты пептида LM32 с мутациями и удалениями. Варианты LM32 перечислены в табл. 7. Домены MRD экспрессировали в виде гибридов с белком MBP и тестировали на способность связывать Ang2.

Таблица 7

MRD, экспрессируемые в виде гибрида с белком MBP	EC50 (нМ)	SEQ ID NO
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDELLLYEQFI	1,080	32
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNEELLYEQFI	20,700	33
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDEGLLYEQFILQQGLE	1,040	88
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDELGLYEQFILQQGLE	n/o	89
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDEALLYEQFILQQGLE	0,182	90
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDELTLYEQFILQQGLE	1,420	91

KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDELLLYEQFIYQQGLE	h/o	92
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDEGLLYEQFIYQQGLE	0,902	93
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDEALLYEQFIYQQGLE	0,392	94
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNEELTYEQFIFQQG	h/o	95
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDEGLLYEEFILQQGLE	0,922	96
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDEALLYEEFILQQGLE	0,426	97
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNEELTYEEFILQQGLE	h/o	98
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDQDELLLYEQFILQQGLE	0,383	99
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDDELLLYEQFILQQGLE	0,240	100

Затем варианты LM32 тестируют на способность индуцировать пролиферацию и/или высвобождение цитокинов. Идентифицируют варианты LM32, функционально активные и обладающие пониженным иммуногенным потенциалом. Получают MRD-содержащее антитело, содержащее вариант LM32, соединенный с легкой цепью Герцептина®, MRD-содержащее антитело, содержащее вариант LM32, соединенный с тяжелой цепью Герцептина®, MRD-содержащее антитело, содержащее вариант LM32, соединенный с легкой цепью Хумира®, MRD-содержащее антитело, содержащее вариант LM32, соединенный с тяжелой цепью Хумира®, MRD-содержащее антитело, содержащее вариант LM32, соединенный с легкой цепью Авастина®, и MRD-содержащее антитело, содержащее вариант LM32, соединенный с тяжелой цепью Авастина®. Содержащие варианты LM32 антитела вводят в моделях на животных, измеряют представленность в форме белка плазмы, время удержания в плазме и в ткани, и сравнивают с указанными показателями антител Герцептин®, Хумира® и Авастин®. Кроме того, эффекты содержащих варианты LM32 антител на клеточную пролиферацию, ангиогенез, онкогенность, артритные показатели сравнивают с эффектами антител Герцептин®, Хумира® и Авастин®.

Пример 34. Анализы *in vivo* для оценки MRD-содержащих антител.

Для определения эффективности мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) *in vivo* в моделях на животных проводят лечение антителом и MRD-содержащим антителом и сравнивают результаты.

MRD-содержащие антитела против HER2 тестируют в следующей модели *in vivo*. Клетки NTH 3T3, трансфицированные экспрессионной плазмидой с HER2, инъецируют бестимусным мышам *pu/pu* подкожно в дозе 10^6 клеток в 0,1 мл забуференного фосфатом солевого раствора согласно описанию в патенте США № 6399063, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. На 0, 1, 5 день и затем раз в 4 дня внутрибрюшинно инъецируют 100 мкг антитела к HER2, ang2-содержащего антитела к HER2, igf1r-содержащего антитела к HER2 и ang2-igf1r-содержащего антитела к HER2. Возникновение и размер опухолей отслеживают в течение одного месяца. Наблюдается повышенная эффективность мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) по сравнению с антителами.

MRD-содержащие антитела против ФРЭС тестируют в следующей модели *in vivo*. Мышей RIP-TbAg содержат на богатом сахарами корме и 5% растворе сахара в воде согласно описанию в опубликованной заявке на патент США № 2008/0248033, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. В возрасте 9-9,5 или 11-12 недель мыши получают лечение два раза в неделю в виде внутрибрюшинных инъекций 5 мг/кг антитела против ФРЭС, ang2-содержащего антитела против ФРЭС, igf1r-содержащего антитела против ФРЭС или ang2-содержащего и igf1r-содержащего антитела. Мыши возрастом 9-9,5 недель получают лечение на протяжении 14 дней, после чего проводится исследование. Мышей возрастом 11-12 недель исследуют через 7, 14 и 21 день лечения. Поджелудочную железу и селезенку мышей извлекают и анализируют. Число опухолей определяют, препарируя каждую сферическую опухоль и производя подсчет. Опухолевую нагрузку определяют путем вычисления суммарного объема всех опухолей в пределах поджелудочной железы мыши. Эффект на ангиогенез определяют путем вычисления среднего количества наблюдаемых ангиогенных островков. Наблюдается повышенная эффективность мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) по сравнению с антителами.

MRD-содержащие антитела против ФНО тестируют в следующей модели *in vivo*. Трансгенные мыши (Tg197) получают лечение в виде трех внутрибрюшинных инъекций антитела против ФНО или ang2-содержащего антитела против ФНО в дозе 1,5 мкг/г, 15 мкг/г или 30 мкг/г согласно патенту США № 6258562, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Инъекции продолжают на протяжении приблизительно 10 недель; еженедельно регистрируют макроскопические изменения морфологии суставов. Через 10 недель мышей умерщвляют и проводят микроскопическое исследование тканей. Размер суставов определяют как средний измеренный размер заднего правого голеностопного сустава с применением микрометра; артритные показатели регистрируют следующим образом: 1 = артрит отсутствует; ± = незначительный (видоизменение суставов); ++ = умеренный артрит (опухание, деформация суставов) и +++ = тяжелый артрит (детектирован анкилоз при сгибании; тяжелые

двигательные нарушения). Используют следующие патогистологические оценки на основе окрашивания срезов суставов гематоксилином-эозином; 0 = детектируемое заболевание отсутствует; 1 = пролиферация синовиальной мембраны; 2 = сильное утолщение синовиальной оболочки 3 = разрушение хряща и эрозия кости. Наблюдается повышенная эффективность мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) по сравнению с антителами.

Пример 35. MRD-содержащие антитела превосходят комбинации антител и доменов MRD.

Для сравнения эффективности мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) с комбинациями антител и доменов MRD исследовали их эффект на клетки SK-BR-3, обработанные ЭФР.

Клетки SK-BR-3 обрабатывали Герцептином, содержащим рЭФР-MRD Герцептином, содержащим рЭФР-MRD антителом Хумира (только MRD) или Герцептином в комбинации с антителом Хумира, содержащим рЭФР-MRD (антитело плюс только MRD), на протяжении 10 мин или 3 ч и стимулировали ЭФР в течение 5 мин. Собирали клеточные лизаты и использовали вестерн-блоттинг для определения уровней фосфотирозина или фосфо-Akt. Результаты представлены на фиг. 28. Герцептин, содержащий рЭФР-MRD полностью ингибировал индуцированные ЭФР фосфорилирование рецепторов и активацию Akt, тогда как Герцептин, только MRD и антитело Герцептин плюс только MRD оказывали незначительный эффект или не оказывали эффекта.

Кроме того, эффект мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) на клеточную пролиферацию сравнивали с эффектом комбинации антител и доменов MRD. В данных экспериментах полученные из MCF-7 клетки карциномы молочной железы обрабатывали антителом Герцептин, содержащим нацеленный на igf1r MRD, соединенный с C-концом легкой цепи, только Герцептином или антителом Хумира, содержащим тот же нацеленный на igf1r MRD (только MRD). Как видно на фиг. 29A, MRD-содержащее антитело ингибировало пролиферацию клеток лучше, чем только Герцептин или только MRD.

Клетки MCF-7 также обрабатывали пентаспецифическим MRD-содержащим антителом. Сначала было продемонстрировано, что указанные пентаспецифические мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащих антител) связываются с пятью мишенями. Нацеленный на Ang2 MRD (Im32) и нацеленный на р-ЭФР MRD соединяли с N- и C-концами, соответственно, антитела Герцептин. Кроме того, нацеленный на $\alpha v \beta 3$ MRD (eeti) и нацеленный на igf1r MRD соединяли с N- и C-концами, соответственно, такого же антитела Герцептин. Отдельные лунки 96-луночного планшета покрывали Ang2, ErbB2, рЭФР, рИФР-1 и $\alpha v \beta 3$ и инкубировали с серийными разведениями MRD-содержащего антитела. Связанное MRD-содержащее антитело детектировали с применением детектирующего антитела против IgG-к человека. Результаты продемонстрировали, что MRD-содержащее антитело связывалось с Ang2, ErbB2, рЭФР, рИФР-1 и $\alpha v \beta 3$ с низким наномолярным или субнаномолярным сродством, сопоставимым с индивидуальными показателями сродства к связыванию доменов MRD или антител.

Затем согласно описанию выше тестировали способность указанных пентаспецифических мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) к ингибированию пролиферации клеток MCF-7. Результаты, представленные на фиг. 29B, демонстрируют, что пентаспецифические мультивалентные и мультиспецифические композиции с Герцептином (например, MRD-содержащих антител) уменьшают пролиферацию более эффективно, чем антитело Герцептин.

Пример 36. MRD-содержащие антитела против ФНО.

MRD-содержащее антитело, которое нацелено на ФНО, получали путем соединения Ang2-связывающего MRD (Im32) с C-концом тяжелой цепи Хумира и экспрессировали в системах как транзиторной, так и стабильной экспрессии. Указанное MRD-содержащее антитело связывало одновременно ФНО- α и Ang2. Указанное MRD-содержащее антитело связывало растворимый ФНО- α и ФНО- α на клеточной поверхности и сохраняло специфичность связывания и функции Fc антитела Хумира (например, связывание FcRn, Fc- γ -R1 и Fc- γ -R3), а также ингибировало опосредованную Ang2 сигнализацию через рецептор Tie-2 дозозависимым образом с субнаномолярной аффинностью.

Гибрид Хумира-Im32 также ингибировал опосредованную ФНО- α цитотоксичность в клетках L929. Указанные клетки культивировали в 96-луночных планшетах в течение ночи и обрабатывали 1 нг/мл ФНО с добавлением 1 мкг/мл актиномицина D в присутствии Хумира или Хумира-Im32 в течение 24 ч при 37°C. После инкубирования добавляли 100 мкл реагента CellTiter-Glo и измеряли люминесценцию с применением InVision (Perkin-Elmer) через 15 мин при комнатной температуре. Результаты показали, что Хумира и Хумира-Im32 проявляли равную активность при ингибировании ФНО- α -опосредованной цитотоксичности в клетках L929 (IC_{50} антитела Хумира = 19,0 нг/мл; IC_{50} Хумира-Im32 = 18,9 нг/мл).

Далее гибрид Хумира-Im32 демонстрировал дозозависимую защиту трансгенных по ФНО человека мышей от клинических признаков артрита в общепринятой модели на мышах. См., например, Keffer et al., EMBO J. 10:4025-4031 (1991). Однодозовое исследование ФК на мышцах показало, что гибрид Хумира-Im32 и Хумира имеют аналогичные профили ФК и иммуногенности. Однако гибрид Хумира-Im32 продемонстрировал повышенную эффективность в указанной модели по сравнению с эффективностью

только Хумира по оценке как клинических симптомов, так и гистологии. См. фиг. 30.

Пример 37. Антитела Zybоду ингибируют индуцируемую ЭФР сигнализацию.

Клетки SK-BR3 высевали с плотностью $0,5 \times 10^6$ клеток/лунку в 6-луночные планшеты и инкубировали (37°C, 5% CO₂) в течение 24 ч, после чего клетки обрабатывали 10 мкг/мл биспецифических и триспецифических антител Zybоду или Герцептина в 1 мл полной среды DMEM с 10% ФБС в течение 24 ч при 37°C. Затем клетки стимулировали 100 нг/мл ЭФР в течение 5 мин. После стимуляции клетки разрушали в 200 мкл лизирующего клеточного буфера (10 mM Tris-HCl (pH 7,5), 1% Triton X-100, 150 mM NaCl, 10% глицерина, 1 mM ванадат натрия, 5 mM ЭДТК и ингибиторы протеазы). Клеточные лизаты центрифугировали при 14000 об/мин на протяжении 10 мин при 4°C для удаления клеточного дебриса. Равный объем 2X буфера для образцов и клеточные лизаты смешивали и кипятили при 100°C в течение 5 мин, белки разделяли на 10% ДСН-ПААГ и переносили на ПВДФ-мембраны (кат. № LC2005, Invitrogen). Мембраны блокировали 3% БСА, 0,1% TWEEN-20 в течение ночи и инкубировали с антителами к фосфо-AKT (кат. № AF887, R&D Systems), фосфо-ERK (кат. № AF1018, R&D Systems) и тотальной ERK (MAB1576, R&D Systems). Конъюгированные с пероксидазой хрена или AP-конъюгированные вторичные антитела против АТ кролика и против АТ мыши (Invitrogen) использовали для визуализации иммунореактивных белков с использованием хемилюминесценции или реагентов для детекции ассоциированного фосфопротеина (AP) соответственно.

Одно биспецифическое антитело, использованное в указанном примере, содержало Герцептин и связывающий рЭФР MRD (Her-egfr, Her-рЭФР). Другое биспецифическое антитело содержало Герцептин с scfv пертузумаба (нацеленным на эпитоп HER2, отличный от эпитопа антитела Герцептин) на С-конце тяжелой цепи (Her-пертузумаб(H)). Одно триспецифическое антитело содержало Герцептин со связывающим рЭФР MRD на С-конце тяжелой цепи и scfv пертузумаба на С-конце легкой цепи. Другое триспецифическое антитело содержало Герцептин со связывающим рЭФР MRD на С-конце легкой цепи и scfv пертузумаба на С-конце тяжелой цепи (Her-zEGFR(L)-Pert(H)). Другое триспецифическое антитело содержало рЭФР-связывающий MRD и scfv пертузумаба, который нацелен на эпитоп HER2, отличный от целевого эпитопа HER2 антитела Герцептин (Her-Pert(L)zEGFR(H) и Her-zEGFR(L)-Pert(H)).

Клетки SK-BR3 экспрессируют очень высокие уровни HER2 и чувствительны к антипролиферативным эффектам Герцептина. Ингибирование конститутивно активированной АКТ представляет собой один из механизмов антипролиферативных эффектов Герцептина в сверхэкспрессирующих HER2 клетках. Такое ингибирование можно предотвратить добавлением факторов роста, таких как ЭФР, ИФР-1 и херегулина (HRG) за счет индуцирования внутриклеточной промитогенной сигнализации. Как показано на фиг. 31, индуцируемая ЭФР активация путей АКТ и ERK в клетках SK-BR3 видна по повышению уровней фосфорилированной АКТ и ERK. Герцептин не оказывает эффекта на ЭФР-индуцированную активацию сигнальных путей в клетках SK-BR3, тогда как Her-egfr и два триспецифических антитела Zybоду с нацеленным на рЭФР пептидом ингибировали эффекты ЭФР. В отличие от биспецифического антитела, которое ингибировало только индуцируемую ЭФР сигнализацию, триспецифические антитела также ингибировали конститутивно активные Akt и ERK в клетках SK-BR3.

Пример 38. Антитела Zybоду ингибируют индуцируемую херегулином сигнализацию.

Клетки SK-BR3 высевали с плотностью $0,5 \times 10^6$ клеток/лунку в 6-луночные планшеты и культивировали в течение ночи. На следующий день клетки обрабатывали 10 мкг/мл биспецифических и триспецифических антител Zybоду или Герцептина в 1 мл полной среды DMEM с 10% ФБС в течение 24 ч при 37°C. Затем клетки стимулировали 200 нг/мл херегулина на протяжении 10 мин. Проводили анализ методом вестерн-блоттинга для детекции уровней фосфорилированной и тотальной Akt и ERK согласно описанию в примере 37.

Херегулин связывается с HER3 и индуцирует активацию сигнальных путей за счет образования гетеродимера HER2-HER3. Как видно на фиг. 32, херегулин индуцировал активацию Akt и ERK в клетках SK-BR3. Герцептин и HER-egfr не оказывали эффекта на индуцируемую херегулином активацию Akt. Пертузумаб, но не Герцептин, блокирует опосредованное херегулином образование гетеродимера HER2-HER3 и сигнализацию. На фиг. 32 показано, что биспецифические и триспецифические антитела Zybоду, содержащие scfv пертузумаба, полностью ингибировали индуцированную херегулином активацию Akt в клетках SK-BR3.

Пример 39. Антитела Zybоду ингибируют индуцируемую ЭФР и херегулином сигнализацию.

Клетки SK-BR3 высевали с плотностью $0,5 \times 10^6$ клеток/лунку в 6-луночные планшеты и культивировали в течение ночи. На следующий день клетки обрабатывали 10 мкг/мл биспецифических и триспецифических антител Zybоду или Герцептина в 1 мл полной среды DMEM с 10% ФБС в течение 24 ч при 37°C. Затем клетки стимулировали 100 нг/мл ЭФР и 200 нг/мл херегулина на протяжении 10 мин. Проводили анализ методом вестерн-блоттинга для детекции уровней фосфорилированной и тотальной АКТ и ERK согласно описанию в примере 37.

Комбинированная стимуляция клеток SK-BR3 ЭФР и херегулином приводила к активации и АКТ, и ERK (фиг. 33). Герцептин, HER-efgr и HER-pertuzuScfv были неэффективны для блокирования комбинированных эффектов ЭФР и херегулина. Триспецифические антитела Zybоду, содержащие как нацелен-

ный на рЭФР пептид, так и scfv пертузумаба, полностью ингибировали индуцируемую ЭФР и херегулином активацию AKT и ERK в клетках SK-BR3.

Пример 40. Антитела Zybody понижающе регулируют рЭФР клеточной поверхности.

Клетки SK-BR3 высевали с плотностью $0,5 \times 10^6$ клеток/лунку в 6-луночные планшеты и культивировали в течение ночи. На следующий день клетки обрабатывали 10 мкг/мл биспецифических и триспецифических антител Zybody, Герцептина, эрбитукса (Erbtux), ЭФР и их комбинаций в 1 мл полной среды DMEM с 10% ФБС в течение 24 ч при 37°C, согласно описанию. Клетки разъединяли и определяли уровни рЭФР на клетках с применением проточной цитометрии с ФЭ-конъюгированным антителом против рЭФР.

В данном эксперименте использовали следующие антитела Zybody: антитело Герцептин со связывающим рЭФР MRD на С-конце тяжелой цепи (HER-egfr(H)); антитело Хумира со связывающим рЭФР MRD на С-конце тяжелой цепи (HUM-egfr(H)); Герцептин с scfv пертузумаба на С-конце тяжелой цепи (HER-perscfv(H)); Хумира с scfv пертузумаба на С-конце тяжелой цепи (HUM-perscfv(H)); Герцептин с scfv пертузумаба на С-конце легкой цепи и связывающим рЭФР MRD на С-конце тяжелой цепи (HER-perscfv(L)-egfr(H)); Герцептин с scfv пертузумаба на С-конце тяжелой цепи и связывающим рЭФР MRD на С-конце легкой цепи (HER-perscfv(H)-egfr(L)) и антитело Хумира со связывающим рЭФР MRD (HUM-egfr). Эрбитукс (Erbtux), ЭФР, а также биспецифические и триспецифические антитела Zybody, содержащие нацеленные на рЭФР пептиды, понижающе регулировали уровни рецептора рЭФР на клеточной поверхности (фиг. 34А и В). Обработка HER-egfr в течение 24 ч была более эффективна (61%), чем обработка только HUM-egfr (27%) или комбинацией HUM-egfr с Герцептином (41%) и эрбитукса (Erbtux) с Герцептином (51%) (фиг. 34А и В). Это показывает, что одновременный таргетинг рЭФР и HER2 в формате антитела Zybody был более эффективен для понижающей регуляции рЭФР, чем комбинация двух индивидуальных антител. Кроме того, обработка триспецифическими антителами, нацеленными на рЭФР и два разных эпитопа HER2, полностью понижала (понижала на 99%) уровни рЭФР на клетках SK-BR3.

Пример 41. Антитела Zybody понижающе регулируют экспрессию рЭФР.

Клетки SK-BR3 высевали с плотностью $0,5 \times 10^6$ клеток/лунку в 6-луночные планшеты и культивировали в течение ночи. На следующий день клетки обрабатывали 10 мкг/мл биспецифических и триспецифических антител Zybody или Герцептина в 1 мл полной среды DMEM с 10% ФБС в течение 24 ч при 37°C. Получали клеточные лизаты и проводили анализ методом вестерн-блоттинга для детекции рЭФР с применением антитела к рЭФР (кат. № MAB10951, R&D Systems) и общих уровней ERK согласно описанию в примере 37.

Обработка Герцептином и scfv Her-пертузумаба не оказывала эффекта на уровни рЭФР в клетках SK-BR3. HER-egfr частично понижающе регулировал белок рЭФР, и практически полное разрушение рЭФР наблюдалось в клетках, обработанных триспецифическими антителами Zybody.

Пример 42. Антитела Zybody повышают активность MRD.

Проводили следующие эксперименты для исследования эффекта, оказываемого гибридным антителом на активность MRD. Индивидуальные лунки 96-луночного планшета покрывали рИФР-1 и ErbB2-Fc (HER2) (1 мкг/мл) в различных соотношениях. Лунки промывали и затем добавляли серийные разведения антител Zybody в присутствии меченого биотиним ИФР-1. Использовали антитела Zybody, представляющие собой антитело Герцептин, содержащее нацеленный на рИФР MRD на С-конце тяжелой цепи (HER-igfr(H)), и антитело Хумира, содержащее нацеленный на рИФР MRD на С-конце тяжелой цепи (HUM-igfr(H)). Связанный ИФР-1 количественно определяли с добавлением стрептавидина-HRP. Результаты представлены в таблице ниже.

Таблица 8

Ингибирование связывания ИФР-1, IC ₅₀ (нМ)				
Антитело Zybody	Отношение рИФР-1:HER2			
	1:0	3:1	1:1	1:3
HER-igfr(H)	220	20,91	1,44	0,14
HUM-igfr(H)	240	189,9	186	111

Ингибирование связывания ИФР-1 было аналогичным для обоих антител Zybody, протестированных при отсутствии в планшетах ErbB2-Fc (HER2) (IC₅₀ HER-igfr(H) = 220 нМ; IC₅₀ HUM-igfr(H) = 240 нМ). В тех случаях, когда планшеты содержали и мишень антитела, и мишень MRD, связывание с мишенью MRD резко уменьшалось. Например, при применении антитела Zybody HER-igfr(H) ингибирование связывания ИФР-1 снижалось от IC₅₀=220 нМ при отсутствии мишени антитела в планшетах (отношение рИФР-1:HER2 = 1:0) до IC₅₀=1,44 при наличии мишени антитела и мишени MRD в планшетах в эквивалентных количествах (отношение рИФР-1:HER2 = 1:1). Эти данные свидетельствуют, что вовлечение мишеней и антитела, и MRD в случае HER-igfr(H) усиливает активность низкоаффинного рИФР-1 MRD более чем в 1000 раз. И напротив, указанный резкий эффект не наблюдался, когда тот же эксперимент

проводили с применением антитела Zyboby, содержащего антитело Хумира, которое не связывается с HER2, даже несмотря на то, что указанное антитело Zyboby содержит тот же нацеленный на рИФР-1 MRD. Соответственно, биспецифические антитела Zyboby проявляют повышенную активность MRD за счет обеспечиваемого авидностью гетеротипического связывания.

Пример 43. Конформационные ограничения могут повышать связывание и стабильность MRD.

Для определения эффекта конформационных ограничений на домены MRD в контексте MRD-содержащего антитела было разработано несколько модифицированных MRD-конструкций, содержащих цистеины в различных локализациях. Указанные цистеины образуют межмолекулярные дисульфидные связи и соответственно вовлечены в формирование трехмерной конформации белков. MRD, подвергавшийся изменениям в указанном эксперименте, представлял собой МРМ. Последовательность МРМ, представленная в таблице ниже, аналогична последовательности Im32 (описан выше), но включает четыре аминокислотных модификации: M5G, N16Q, L19A и Q24E. G в положении 5 в МРМ минимизирует потенциальное окисление остатка метионина, а L19A и Q24E устраняют потенциально иммуногенные последовательности. В данных экспериментах все домены MRD соединяли с С-концом тяжелой цепи Герцептина.

Полученные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) затем тестируют на связывание мишени и стабильность. Стабильность определяли путем введения MRD-содержащего антитела посредством внутривенной инъекции мышам и сравнения уровней MRD в плазме через 15 мин после инъекции с уровнями MRD в плазме через 2, 3 или 4 дня после инъекции. Результаты приведены ниже в табл. 9.

Таблица 9

Связывание и стабильность пространственно ограниченных доменов MRD

Конструкция	Последовательность	EC50, нМ	% MRD, 48 ч
HER-2 $\times$ -con4	AQQEECEWDPWTCEHMGSGSATGGS GSTASSGSGSATHQEECEWDPWTCEH MLE (SEQ ID NO:136)	0,018	70
HER-Im32(H)	<u>KSLSLSPGK</u> GGGSMGAQTNFMPMDND ELLLEYEQFILQQGLE (SEQ ID NO:34)	0,033	23

HER-mpm(H)	<u>KSLSLSPGSGGGSGGAQTNFMPMDQD</u> EALLYEEFILQQGLE (SEQ ID NO:56)		19
HER-lm32 (MPM Q8C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSGGACTNFMPMDQD</u> EALLYEEFILQQCLE (SEQ ID NO:57)	4,06	
HER-lm32 (MPM T9C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSGGAQCNFMPMDQD</u> EALLYEEFILQQCLE (SEQ ID NO:58)	0,598	38
HER-lm32 (MPM N10C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSGGAQTCFMPMDQD</u> EALLYEEFILQQCLE (SEQ ID NO:67)	0,177	9
HER-lm32 (MPM F11C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSGGAQTNCMPMDQD</u> EALLYEEFILQQCLE (SEQ ID NO:68)	5,91	
HER-lm32 (MPM N10C L28C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSGGAQTCFMPMDQD</u> EALLYEEFICQQGLE (SEQ ID NO:69)	0,403	33
HER-lm32 (MPM M5C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSCGAQTNFMPMDQD</u> EALLYEEFILQQCLE (SEQ ID NO:70)	0,0641	60
HER-lm32 (MPM M5C L28C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSCGAQTNFMPMDQD</u> EALLYEEFICQQGLE (SEQ ID NO:101)	0,109	14
HER-lm32 MPM A7C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSGGCQTNFMPMDQD</u> EALLYEEFILQQCLE (SEQ ID NO:108)	0,174	82
HER-lm32 (MPM P13C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSGGAQTNFMCMDQD</u> EALLYEEFILQQCLE (SEQ ID NO:109)		
HER-lm32 (MPM M5C N10C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSCGAQTCFMPMDQD</u> EALLYEEFILQQGLE (SEQ ID NO:110)	0,2	13
HER-lm32 (MPM M5C F11C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSCGAQTNCMPMDQD</u> EALLYEEFILQQGLE (SEQ ID NO:111)		
HER-lm32 (MPM D5 N10C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSCFMPMDQDEALLYE</u> EFILQQCLE (SEQ ID NO:112)	0,751	3
HER-lm32 (MPM D5 N10C L28C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSCFMPMDQDEALLYE</u> EFICQQGLE (SEQ ID NO:113)	0,697	36

Результаты продемонстрировали, что добавление двух остатков цистеина вне корового связывающего мишень домена (например, PMDQDEALLY в MPM) домена MRD может увеличивать период полувыведения MRD, по существу, без уменьшения сродства к связыванию.

Конструкции, содержащие один цистеин, расположенный возле конца молекулы (например, приблизительно через две аминокислоты от конца), и один цистеин, расположенный на противоположном конце указанного связывающего мишень домена (например, по меньшей мере приблизительно через 3 или приблизительно через 4-7 аминокислот от корового связывающего домена) и возле места присоединения белка (например, приблизительно через 4-6 аминокислот от линкера или последовательности антитела) могут демонстрировать увеличение периода полувыведения MRD, по существу, без уменьшения сродства к связыванию. Кроме того, домены MRD, содержащие цистеины в пределах сайта связывания мишени, в частности, на каждом конце сайта связывания мишени, могут представлять собой MRD, как отличающиеся высокой стабильностью, так и эффективно связывающие мишень.

Новые мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), домены MRD которых имеют продолжительный период полувыведения *in vivo*, и эффективно связывающие мишень, могут быть идентифицированы путем изменения последовательности MRD с включением по меньшей мере двух цистеинов. Цистеины могут быть расположены на расстоянии по меньшей мере приблизительно 6, приблизительно 7, приблизительно 8, приблизительно 9, приблизительно 10, приблизительно 11, приблизительно 12, приблизительно 13, приблизительно 14, приблизительно 15, приблизительно 16, приблизительно 17, приблизительно 18, приблизительно 19 или приблизительно 20 аминокислот друг от друга. Связывающий потенциал и период полувыведения MRD в MRD-содержащем антителе оценивают с применением известных техник и способов, описанных в настоящем документе. MRD-содержащие антитела вводят мышам внутривенно. Через непродолжительное время после введения (например, через 15 мин после введения) и в более поздний момент времени (например, через 2, 3 или 4 дня после введения) собирают плазму мышей. Идентифицируют подходящие мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые и эффективно связываются с мишенью MRD, и стабильны *in vivo* (например, через 48 ч после введения присутствует по

меньшей мере приблизительно 50% MRD).

Пример 44. MRD-содержащие антитела для перенаправленного Т-клеточного киллинга.

Гибридные молекулы антитело-MRD получали путем соединения нацеленного на CD3 пептида с антителом против CD19 и путем соединения нацеленного на CD19 пептида с антителом против CD3. Полученные MRD-содержащие антитела анализируют с применением проточной цитометрии на CD3-положительных клетках Jurkat, МКПК человека и ряде различных CD19-положительных клеточных линий В-клеточной лимфомы (например, SKW6.4, Blin I, BJAB, Daudi и Raji) для определения специфических показателей сродства к связыванию каждой мишени. Поскольку BL60 и линии клеток плазматомы NCI и L363 отрицательны и по CD3, и по CD19, они используются в качестве клеток отрицательного контроля для определения специфичности MRD-содержащих антител. CD3-отрицательные клетки Jurkat могут также применяться в качестве популяции клеток отрицательного контроля. Клеточные линии культивируют на полной среде RPMI 1640 (Invitrogen) с 10% ФБС (GIBCO).

Клетки промывают ФБС и блокируют ресуспендированием в ФБС с 10% IgG человека (Innovative Research) и 0,1% NaN_3 (блокирующий буфер) в течение 30 мин при 4°C. Затем клетки осаждают центрифугированием ($100\times g$ в течение 5 мин) с последующим инкубированием с MRD-содержащими антителами в блокирующем буфере в течение 30 мин при 4°C. Клетки троекратно промывают ФБС и детектируют связанные на клеточной поверхности MRD-содержащие антитела. Проточная цитометрия может быть проведена с применением BD FACScan.

Пример 45. Цитотоксичность MRD-содержащих антител *in vitro* для перенаправленного Т-клеточного киллинга.

Биспецифические CD19/CD3 MRD-содержащие антитела анализируют в отношении способности индуцировать перенаправленный Т-клеточный киллинг CD19-положительных клеток лимфомы. Мононуклеарные клетки периферической крови человека (МКПК) выделяют в качестве эффекторных клеток из свежих лейкоцитарных пленок случайных доноров с применением градиентного центрифугирования с Lymphoprep™ (Nycomed/Axis-Shield PoC), с последующим центрифугированием при $100\times g$ для удаления тромбоцитов. CD19-положительные В-клетки истощают с применением гранул Dynabeads® CD19 Pan B (Life Technologies). Популяции МКПК анализируют с применением проточной цитометрии до и после истощения по CD19-положительным В-клеткам путем мечения ФИТЦ-конъюгированным антителом мыши против CD19 человека и дополнительного мечения ФЭ-конъюгированным антителом против CD45. МКПК инкубировали в течение ночи при 37°C с 5% CO_2 . CD19-положительные В-клеточные линии (например, SKW6.4, Blin I, BJAB, Daudi и Raji) использовали в качестве целевых клеток.

Целевые клетки инкубировали в 96-луночных планшетах на полной среде RPMI 1640 (Invitrogen) с 10% ФБС (GIBCO) при разной плотности клеток, таким образом, чтобы добавление одного и того же количества нестимулированных МКПК приводило к получению разных соотношений эффекторных и целевых клеток (Е:Т). Затем в каждую лунку добавляли различные концентрации биспецифических CD19/CD3 MRD-содержащих антител с последующим добавлением нестимулированных МКПК. Планшеты инкубировали при 37°C с 5% CO_2 в течение 3 ч. Цитотоксичность может быть измерена с помощью анализа цитотоксичности DELFIA® EuTDA (PerkinElmer) в круглодонных 96-луночных планшетах в соответствии с инструкциями производителя. Спонтанную клеточную смерть измеряют путем инкубирования целевых клеток без эффекторных клеток или MRD-содержащих антител, а максимальную клеточную смерть определяют путем инкубирования целевых клеток с 10% Triton X-100. Долю клеток, подвергшихся специфическому лизису, рассчитывают как отношение между опосредованной эффекторами цитотоксичностью ([экспериментальная клеточная смерть] - [спонтанная клеточная смерть]) и максимальной ожидаемой цитотоксичностью ([максимальная клеточная смерть] - [спонтанная клеточная смерть]).

Пример 45. Эффективность MRD-содержащих антител *in vivo* для перенаправленного Т-клеточного киллинга.

В-клетки лимфомы Raji извлекают из рутинным образом полученной клеточной культуры, промывают в ФБС и получают состав с плотностью 1×10^7 клеток/мл. Затем мышам NOD/SCID подкожно инокулируют 1×10^6 клеток Raji с 5×10^6 МКПК или без МКПК (полученных в соответствии с приведенным выше описанием) в 50% растворе Matrigel. Биспецифические CD19/CD3 MRD-содержащие антитела вводят внутривенно через 1 ч после инокуляции клеток лимфомы. В качестве отрицательного контроля через 1 ч после инокуляции клеток лимфомы также вводят внутривенно биспецифические MRD-содержащие антитела, направленные на HER2 и CD3 (т.е. связывающий CD3 MRD, соединенный с антителом против HER2, и связывающий HER2 MRD, соединенный с антителом против CD3), HER2 и CD19 (т.е. связывающий CD19 MRD, соединенный с антителом против HER2, и связывающий HER2 MRD, соединенный с антителом против CD19) и ФБС. MRD-содержащие антитела или ФБС вводят один раз в сутки в течение четырех дней после введения начальной дозы. Подкожные опухоли измеряют калипером для определения скорости роста в каждой экспериментальной группе. Также дважды в неделю измеряют массу тела мышей в качестве индикатора переносимости лечения.

Пример 46. Антитела Zybody, несущие агонизирующие DR5 домены MRD на разных mAb-

скаффолдах.

С применением анализа жизнеспособности клеток оценивали цитотоксические эффекты нескольких антител Zybody (а именно, MRD-содержащих антител), проявляющих разные валентности агонизирующих DR5 (TNFRSF10B/TRAILR2) MRD на трех разных mAb-скаффолдах. Вкратце, восемь серийных разведений антител Zybody (5-кратных, начиная с 30 мг/мл) инкубировали с 10^4 клеток COLO-205 в лунках 96-луночного планшета, содержащих 100 мл среды RPMI с добавлением 10% ФБС. Через 48 ч жизнеспособность клеток измеряли посредством анализа Cell TiterGlo® (Promega). Результаты, представленные на фиг. 36А, показывают, что тетравалентное антитело Zybody 2×dr51m(H)-TRA, содержащее четыре копии направленных на DR5 MRD, соединенных со скаффолдом на основе моноклонального антитела трастузумаба, продемонстрировали более высокую цитотоксическую активность по сравнению с бивалентными антителами Zybody dr51m(H)-TRA, dr51m(L)-TRA и TRA-dr51m(H). Указанные результаты демонстрируют, что увеличенная валентность агонизирующих DR5 доменов MRD коррелирует с увеличенным киллингом клеток, опосредованным рецептором с доменом смерти DR5.

Для дополнительного исследования валентности на опосредованную DR5 клеточную цитотоксичность два октавалентных антитела Zybody (2×dr51m(L)2×dr51m(H)-HER и 2×dr51m(L)2×dr51m(H)-PAL, содержащие скаффолды на основе моноклональных антител трастузумаба и паливизумаба, соответственно) анализировали на способность к киллингу опухолевых клеток COLO205 по сравнению со сконструированным аналогичным образом тетравалентным антителом Zybody, обладающим такими же видами специфичности.

Октавалентные антитела Zybody 2×dr51m(L)2×dr51m(H)-HER и 2×dr51m(L)2×dr51 m(H)-PAL, содержащие 8 копий направленного на DR5 MRD, продемонстрировали более высокую цитотоксическую активность по сравнению с тетравалентными антителами Zybody 2×dr51m(H)-HER и 2×dr51m(H)-PAL (фиг. 36В-С). Указанные результаты дополнительно подтверждают корреляцию между увеличением валентности связывания DR5 и повышенной цитотоксической активностью (т.е. клеточной смертью).

Для исследования эффекта дополнительных видов специфичности, направленных не на DR5, на цитотоксичность антител Zybody на основе DR5, нацеленный на Her2 MRD (eb18) соединяли с С-концом тяжелой цепи трастузумаба с получением триспецифического тетравалентного DR5-антитела Zybody, 2×DR5(H)-TRA-eb18(H). MRD eb18 был выбран, поскольку он связывает her2 через эпитоп, отличный от распознаваемого трастузумабом. Мультиэпитопный таргетинг her2 повышал цитотоксичность антитела Zybody (фиг. 36D). Указанные результаты демонстрируют, что антитело Zybody, способное к мультиэпитопному таргетингу рецепторов, отличных от DR5 (her2), усиливает цитотоксическую активность тетравалентных нацеленных на DR5 доменов MRD.

Для дополнительного исследования эффекта мультиспецифичности на цитотоксическую активность антител Zybody на основе DR5 нацеленный на рЭФР MRD (eb13) соединяли с С-концом тяжелой цепи цетуксимаба (антитела против рЭФР) с получением триспецифического тетравалентного DR5-антитела Zybody, 2×DR5(H)-CET-eb13(H). MRD eb13 был выбран, поскольку он связывает рЭФР через эпитоп, отличный от распознаваемого цетуксимабом. Мультиэпитопный таргетинг рЭФР повышал цитотоксичность антитела Zybody (фиг. 36Е). Указанные результаты демонстрируют, что антитело Zybody, способное к мультиэпитопному таргетингу отличных от DR5 рецепторов (рЭФР), усиливает цитотоксическую активность тетравалентных нацеленных на DR5 доменов MRD.

Для исследования эффекта специфичности mAb-скаффолда на активность антител Zybody на основе DR5 сравнивали цитотоксическую эффективность трех антител Zybody, отличающихся тем, что каждое антитело Zybody конструировали с одними и теми же нацеленными на DR5 доменами MRD на разных скаффолдах; цетуксимабе (CET), трастузумабе (TRA) и паливизумабе (PAL). Результаты показывают, что mAb-скаффолд антитела Zybody может влиять на кажущуюся цитотоксическую эффективность нацеленных на DR5 доменов MRD (фиг. 36F).

Пример 47. Специфичность Ang-связывающих MRD в отношении Ang1, Ang2 и Ang4.

Специфичность выбранной группы Ang2-связывающих пептидов, экспонируемых на фагах, в отношении Ang1, Ang2 и Ang4 оценивали в ИФА-анализе ELISA прямого связывания. Вкратце, планшеты для ELISA покрывали заданным белком в концентрации 0,1 мкг/мл в ФСБ. Планшеты блокировали и добавляли фаговые супернатанты в разведении 1:10 в блокирующем буфере. Несвязанный фаг удаляли, промывая ФСБ с 0,1% Tween, связанный фаг детектировали с применением HRP-конъюгированного моноклонального антитела против M13. Анализировали следующие пептиды: ANG100 (SEQ ID NO: 621), ANG126 (SEQ ID NO: 232); ANG129 (SEQ ID NO: 234); ANG156 (SEQ ID NO: 255); ANG157 (SEQ ID NO: 256); ANG163 (SEQ ID NO: 261); ANG179 (SEQ ID NO: 270); ANG200 (SEQ ID NO: 628); ANG303 (SEQ ID NO: 331); ANG318 (SEQ ID NO: 625); ANG335 (SEQ ID NO: 332); и ANG599 (SEQ ID NO: 367).

Эти данные показывают, что все Ang-связывающие пептиды связывают Ang2, но отличаются по относительному связыванию с Ang1 и Ang4 (фиг. 37). Указанные данные демонстрируют, что точная специфичность связывающих Ang пептидов может отличаться у разных пептидов. Перекрестная реактивность доменов MRD в отношении представителей семейства Ang может использоваться при заболеваниях, характеризующихся дифференциальной экспрессией представителей семейства Ang.

Пример 48. Идентификация примеров связывающих мишени доменов MRD.

Приведенные ниже примеры связывающих мишени доменов MRD были идентифицированы с применением процедуры, по существу, соответствующей описанию в настоящем документе.

Таблица 10

Связывающие ANG2 домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикаци онный номер	Пептидная последовательность
136	ANG2	SACDHPMNNKCG
137	ANG4	SACGTFTHPQCG
138	ANG6	SACHPMAPKSCG
139	ANG7	SACGSYNHPMCG
140	ANG8	SACGSYEHMPCG
141	ANG10	SACQSSVCFVWRWF
142	ANG12	SACHPLIHNRCG
143	ANG18	TCIFNFPACI
144	ANG19	FCDEYTPAWCW
145	ANG20	MCPDFGMFIYCI
146	ANG22	QCQEVISACFGQAGQGGG SGGSQCWLMELVCL
147	ANG23	KCPDMWPQCW
148	ANG24	KCPDMWPMCW
149	ANG25	QCEWIWVACDGQAGPAG FCYEHMLMCA
150	ANG26	RCYEVVWDCA
151	ANG27	ACIPDLFLCM
152	ANG28	QCMWMWYQCR
153	ANG29	KCPDMWPECW
154	ANG30	PCQYWWVLCP
155	ANG31	LCWNHWWMCCE
156	ANG32	FCHEYTPACCW
157	ANG33	KCPDFWPECW
158	ANG34	ECYHHWPECM
159	ANG35	RCPDMWFACW
160	ANG37	ICIYWKDPWCY
161	ANG38	KCPDLWPQCY
162	ANG40	YCWVIAKSCVQAGQGG GGGGSICRHYVWRCE
163	ANG41	LCWNHWWMCD
164	ANG42	MCTWQFMVCPGQAGQGG GSGGSYCWEYVYRCD
165	ANG43	MCWNHWWMCCE
166	ANG46	HCIFNFPACI
167	ANG47	LCFNHWWMCP
168	ANG49	MCIYWKEPWCY
169	ANG50	WCDHTEAWPECF
170	ANG51	ECYWYPNPMWCY
171	ANG52	HCPWGTMMNCV
172	ANG54	ECTDYPEWRYCQ
173	ANG55	ECFFFPNPWHCY
174	ANG56	PCAWFPNPSFCY
175	ANG58	MCPWWYDHLHCY
176	ANG59	MCPIWYDHWCH
177	ANG61	ECWWYYNHFWCH
178	ANG62	ECAWFPNPWCCY
179	ANG63	GCWHDGFMCF
180	ANG64	WCDHWIVWPECW
181	ANG65	QCNDYPNWRYCF
182	ANG66	PCAWYPNPEFCY
183	ANG67	LQYEEFYDHV
184	ANG68	QCPYRINHQRCS
185	ANG69	DCVWFPNPDWCY
186	ANG70	FCALFPYMFPE
187	ANG71	DGSPCAWFPNPSFCY
188	ANG72	VCPWWYDHWLCS
189	ANG73	ECDGWEYHYFCW

190	ANG74	YCPLCQYHYGCF	217	ANG10	FCDFYDYHYVCF
191	ANG75	SCWWYPNPQWCY	7		
192	ANG76	ECYFLVNMEWCQ	218	ANG10	VCPYWWDHWLCL
193	ANG77	TCWFWELEFFCI	8		
194	ANG78	KCYWFPNPIECY	219	ANG10	MCPFWYDHEL CV
195	ANG79	DCAWFPNPAWCH	9		
196	ANG80	HCPYWYDHELCH	220	ANG11	ICPWWYDHYTCF
197	ANG81	YCPQWYDHWLCT	0		
198	ANG82	NCWEYPNPAWCY	221	ANG11	ACDWFQNPYVCW
199	ANG83	ECDGWEYHYVCW	1		
200	ANG84	ECYWYPNPWFCY	222	ANG11	PCAWYPNPAECY
201	ANG85	DCVDYPGWEYCV	2		
202	ANG86	ECYMLHACYDEGH	223	ANG11	ECPFWYDHYMCM
203	ANG87	WCDRGTYVMFCD	3		
204	ANG88	TCPVWWDYDWCY	224	ANG11	PCHWFPNPTECY
205	ANG89	WCDYGTYYVQCE	4		
206	ANG90	HCYWHPSPSWCY	225	ANG11	ECYTFPNPQFCY
207	ANG91	QCYWFPNPLECY	6		
208	ANG93	QCKWFPNPKECY	226	ANG11	SCYSYPNPAWCY
209	ANG94	PCPYFNRQHCV	8		
210	ANG95	ICYVYGLEEWCI	227	ANG11	ECYWYPNPHWCR
211	ANG98	HCPLWYDHYFCA	9		
212	ANG10	ACAWYPNPVECY	0		
	1		228	ANG12	HCYWHPSPNWCR
213	ANG10	ECAIYPNPQWCY			
	2		229	ANG12	HCPDWYNHQLCP
214	ANG10	DCYYYPNPSPWCW	1		
	3		230	ANG12	ACVWFPNPDWCY
215	ANG10	DCYYFNPNPQWCF	2		
	4		231	ANG12	LGPVLLECYFYNPQH CY
216	ANG10	QCPWWYDHYWCN	3		
	6		232	ANG12	VPIDCYFYNPPECYLHN
			6		

233	ANG12 8	GYRDCYFYPNPRHCYGS	249	ANG14 8	GNFAHEECYFYPNPAHCY
234	ANG12 9	VVVEFWECYVYPNPPHCY	250	ANG14 9	QPRLLHDCYFYPNPSHCY
235	ANG13 0	LVNDCFFFPNPPHCYVSS	251	ANG15 0	NPTDCYFYPNPQHHCYNW G
236	ANG13 1	RMADCYFYPNPQHHCYTEG	252	ANG15 1	YPFFLVDCYFFPNPLHCY
237	ANG13 2	DEQACYFYPNPAHCYQRD	253	ANG15 3	SVAHVHGLLLLPESDALL
238	ANG13 3	FLGAMMDCYFFPNPPHCY	254	ANG15 4	GEYDCYFYPNPPHCYDRN
239	ANG13 4	VYQDCYNFPNPVHCYRTT	255	ANG15 6	LHVDCYFYPNPPHCYIDE
240	ANG13 5	LVDYSMDCYFFPNPPHCY	256	ANG15 7	QDHCYFYPNPPHCYLEG
241	ANG13 6	HSLIYHDCYFYPNPPHCY	257	ANG15 8	HFSDCFYFYPNPQHHCYHMM
242	ANG13 7	LLSVLLECYFYPNPPHCY	258	ANG15 9	PIEDCYFYPNPRHCYLQP
243	ANG13 8	PTDVLLECYLYPNPPHCY	259	ANG16 0	ECCYCYNYDTWSHCCQK G
244	ANG13 9	SLPLRAFCYFPPNPPHCY	260	ANG16 1	VVLPSYDCYFYPNPPHCY
245	ANG14 2	TDTDCYFFPNPPHCYSPG	261	ANG16 3	VPWDCYFYPNPPHCYEDA
246	ANG14 3	IYDDCYIFPNPHHCYVGF	262	ANG16 4	FVSSAFDCYFYPNPAHCY
247	ANG14 4	PWHECYWYPNPPHCYGIL	263	ANG16 5	ALVECYFYPNPLHCYNTS
248	ANG14 5	MPLIFSECYSYPNPPHCY	264	ANG16 6	FWYSLDDCYFYPNPSHCY

265	ANG16 9	RSNLMTDCYYPNPPHCY	281	ANG19 4	QSLSFLDCYFYPNPLHCY
266	ANG17 2	QLVDCLYYPNPPHCYESM	282	ANG19 7	NYYCYLSPNPPHCYLSF
267	ANG17 4	WDVDCGFFPNPAYCYELG	283	ANG19 8	HFSDCYFYPNPPHCYESI
268	ANG17 5	LQGRMIDCYSYPNPPHCY	284	ANG19 9	EVLDCFFYPNPPHCYKAL
269	ANG17 6	QRDPLAACIYPNPPHCY	285	ANG20 1	RDTDCYFYPNPAHCYLG
270	ANG17 9	LLWECYFYPNPSHCYTDR	286	ANG20 3	KCPMLPDWVSCDEWMLQ K
271	ANG18 0	QDIDCYFYPNPPHCYHVT	287	ANG21 0	LSLKCPLLPDWISCDEYY
272	ANG18 2	RLHDCYFYPNPPHCYLWQ	288	ANG21 1	KCPLLPDWLSCLEWQLME
273	ANG18 3	SLTTFIDCYFYPNPPHCY	289	ANG21 5	KCPLLPDWVPCHEWLN W
274	ANG18 6	SSGPDIDCYFYPNPPHCY	290	ANG21 7	AMSLCPLLPDWASCNDYL
275	ANG18 7	DCYFYPNPLYCYEDWDYT	291	ANG21 8	LCPRLPDWVSCHTWLERY
276	ANG18 8	IWLDCYFYPNPPHCSLNS	292	ANG21 9	LSTKCPLLPDWVSCHEWL
277	ANG18 9	QWNDCYFYPNPPHCYGR Q	293	ANG22 0	LGWTELKCPLLPDWATCHN
278	ANG19 0	GHMDCYYPNPSHCYQQ L	294	ANG22 2	KCPLLPDWVSCHEWNVW L
279	ANG19 2	WLSQCYSYPNPPHCYTLF	295	ANG22 3	KCPLLPDWISCAQWQRAV
280	ANG19 3	SSLHMLDCYYPNPPHCY	296	ANG22 4	VGSLCPLLPDWASCHEWL

297	ANG22 5	RCPFLPDWLSCNEWMIE	313	ANG25 6	LMHECPLLPDWVSCHTFL
298	ANG22 8	WYRKCPLLPDWVSCHEW Y	314	ANG25 7	KCPLLPDWVSCETYLNGD
299	ANG22 9	TTLNCPLLPDWLTCQEFL	315	ANG25 8	KCPLLPDWVSCDMYLERQ
300	ANG23 1	KCPLLPDWASCESWLEVR	316	ANG25 9	KCPLLPDWASCDQWNEW N
301	ANG23 2	HLDKCPLLPDWISCTDWL	317	ANG26 3	YVSKCPFLPDWVWSCHGWL
302	ANG23 3	KCPLLPDWVTCDEFQGM Q	318	ANG26 6	KCPFLPDWVWSCHDYSQKY
303	ANG23 9	ATSKCPLLPDWVSCDEHL	319	ANG26 7	FPPKCPLRPDWVWSCHERH
304	ANG24 1	SSGKCPLLPDWVSCDEWL	320	ANG26 9	ECPLLPDWVSCHEWNRLH
305	ANG24 2	KCPLLPDWVSCHEWNIRE	321	ANG27 0	SPVKCPFLPDWISCDLYL
306	ANG24 5	KCPLLPDWFSCHEYQEMF	322	ANG27 2	TAFKCPPLPDWVWSCLDWL
307	ANG24 6	KCPLLPDWVSCHTYLEES	323	ANG27 4	KCPLLPDWVSCQEWLSSK
308	ANG24 7	EPPKCPMLPDWVSCDTWL	324	ANG27 5	HYDKCPLLPDWVWSCHEFL
309	ANG24 8	DVPHQLNCPLLPDWAACL	325	ANG27 7	GLRKCPVLPDWVSCDNW L
310	ANG24 9	EISKCPLLPDWVSCYQWL	326	ANG27 8	SGFKCPLLPDWVWSCTDCT
311	ANG25 0	MNVKCPLLPDWVWSCLDY L	327	ANG27 9	LASKCPLLPDWWSCTQTL
312	ANG25 2	MLMKCPLLPDWASCDVW L	328	ANG28 0	KCPLLPDWVSCDQWRLL

329	ANG28 1	YFDKCPLLPDWLTCH EW M	345	ANG38 2	VFYRCMKWPNPWWCYSQ P
330	ANG28 4	LPSKCPLLPDWTSCDEYL	346	ANG38 3	GFQRCKTFPNPHYCYKTH
331	ANG30 3	KSVSMKTCQDYPGWRYC Q	347	ANG38 4	DWSKCPKYPNPEWCYHPS
332	ANG33 5	VNVFLKTCQDYPGWRYC H	348	ANG38 5	TYTKCMTYPNPQYCFKHN
333	ANG33 9	PWPDCPVYRYCRHCHHK T	349	ANG38 7	SMWGCHMQPNYRECSLW I
334	ANG35 5	TGSTAKYCQDYPGWRYC H	350	ANG38 8	PHVICHYCPHPWCFLNS
335	ANG35 8	LPMECYFYPNPEHCYLVP	351	ANG38 9	LELPCGKYPNMWFCYKV A
336	ANG37 0	TYTKCMTYPNPQYCFKHS	352	ANG39 0	KERPCVWWKQPWCFQAS
337	ANG37 1	RFLECAWFPTPYFCH ESE	353	ANG39 1	QWFRCYEFPEPDWCRVRS
338	ANG37 4	QYDPCEYYIPC VKWG	354	ANG39 3	EWAFCSYSPNP DYCHEAV
339	ANG37 5	GFHRCSTFPNPHYCYKTH	355	ANG39 4	TYRKCMTYPNP PHYCFKHS
340	ANG37 6	RWSYCEETMIGYPYCFTR P	356	ANG39 5	RYSLCMTYPNPYQCYKSN
341	ANG37 7	AAFMLSCHSTDGQSWAC MESH	357	ANG39 6	PHVICHYWKHPWCFHNS
342	ANG37 8	RSFECRWQPEHPICAKGV	358	ANG39 7	PWFSCYYFPNP SHCMDVV
343	ANG38 0	ILLRCAWYPAPPWCNIET	359	ANG39 8	LYDRCVCFPNLFWCEMTT
344	ANG38 1	PHVICHYWKHPWCFQNS	360	ANG39 9	RSLACEFHPQKYHVQC AL PH

361	ANG40 0	NTLRCYSGVLVDAMVCFT SG	377	ANG64 6	GMLDCYFYPNPPHCYLDR
362	ANG40 3	QYDPCEYDIPCVKWG	378	ANG64 7	SGTECYFYPNPPHCYSSD
363	ANG40 4	SWAQCYAYPNPDFCNRSG	379	ANG64 8	SLEDCFFYPNPTLCYNNG
364	ANG40 5	PYEKCMYTPNPWYCFLTD	380	ANG64 9	AFSRFLDCYFYPNPQHGY
365	ANG40 6	PYERCTKHPNPTYCWKNL	381	ANG65 0	GVYSFLECSFFPNPPYCY
366	ANG40 7	MYAMCQWHPSPEQCRSPS	382	ANG65 1	EEGSSSDCYFYPNPRHCY
367	ANG59 9	KCP LLPDWASCR	383	ANG65 2	LTLLDDCYFYPNPPHCY
368	ANG63 7	TYLQIECYFYPNPPHCY	384	ANG65 3	LFHSMTDCYFYPNPRHCY
369	ANG63 8	LTPSGSDCYFYPNPLHCY	385	ANG65 4	REQDCFFYPNPPHCYVDN
370	ANG63 9	GAYDCYFYPNPPHCYGT	386	ANG65 5	ASLGLYDCYFYPNPPNCY
371	ANG64 0	YLNHNIECYFFPNPTHY	387	ANG65 7	RTGTLGDCYFYPNPRHCY
372	ANG64 1	GFLTIFYDCYFFPNPPHCF	388	ANG65 8	SPLDCYFYPNPPHCYAH
373	ANG64 2	TFIDCYFYPNPPHCYALW	389	ANG65 9	IEGDCYFYPNPPHCYEQN
374	ANG64 3	ASDILLDCYFFPNPPHCR	390	ANG66 0	FNYSMYDCYFYPNPAHCY
375	ANG64 4	LPLSWSDCYFYPNPPHCY	391	ANG66 1	LVLPLFDCYFYPNPPHCY
376	ANG64 5	ALLDCYFYPNPAHCYITM	392	ANG66 2	FHFVLYDCYFYPNPPYCF

393	ANG66 3	HRADCYFFPNPMDCYQW R	409	ANG68 1	IYPECYFYFNPKNKSCYSDQ
394	ANG66 4	STNLALDCYFYFNPPHCY	410	ANG68 2	PPTSLADCYFFPNPLHCY
395	ANG66 5	SPNDCYFYFNPPECYTHR	411	ANG68 3	LLAACYFYFNPPLCFTST
396	ANG66 6	IVITSLACYFYFNPPLHCY	412	ANG68 4	GEEDCYFYFNPPHCYSEL
397	ANG66 7	GGVPMTDCYFYFNPRLHCY	413	ANG68 5	ECYFYFNPPHCYMEHRST
398	ANG66 8	DFRDCYSFPNPTQCYINT	414	ANG68 6	TEIECYFYFNPQPQCYAIH
399	ANG67 0	WPTDCFFFPNPPHCYHDG	415	ANG68 7	PRMDCYFYFNPPHCYNGQ
400	ANG67 1	HILDCYFYFNPPHCYLVT	416	ANG68 8	MSLPHQNCYFFNPPTYCY
401	ANG67 2	DEADCYFYFNPPHCYSGH	417	ANG68 9	YGDECYFFPNPPHCFSWD
402	ANG67 3	TLVSMMDCYFYFNPPHCY Y	418	ANG69 1	FFESSFDCYFFPNPNHCY
403	ANG67 4	QSVRYMDCYFYFNPNSHCY	419	ANG69 2	MLVVPSDCYFYFNPNSHCY
404	ANG67 5	WYDPYYACYFYFNPNTYC Y	420	ANG69 3	LQVDSLDCYFYFNPPHCY
405	ANG67 6	LSGPFLDCYFYFNPPTHCY	421	ANG69 4	QLMDCYFFPNPHHCFESK
406	ANG67 7	VMLDCYFYFNPPLDCYWL T	422	ANG69 5	DCYFYFNPPHCYNERVEA
407	ANG67 9	SSLEHNDCYFYFNPMMHCY	423	ANG69 6	SDMDCYFYFNPPHCFTPP
408	ANG68 0	RHVDCYFYFNPPHCYLVL	424	ANG69 7	GADTMQWNCYFFPNPT HCY

425	ANG69 8	HIKDCYFFPNPPHCYKST	441	ANG71 4	AFVHCYFFPNPQHCHYHRL
426	ANG69 9	PHQRHLECYFYNPPECY	442	ANG71 5	MIFDCYFFPNPRHCYHEG
427	ANG70 0	SYLDFTDCYFYNPPHCY	443	ANG71 6	SYFLTWDCTYPNPPHCY
428	ANG70 1	APGYTQDCYWFPNPPHCY	444	ANG71 8	TGFECYFYNPNRHCYNDI
429	ANG70 2	RFSSFHDCYFYNPNSHCY	445	ANG71 9	LYPSLLDCYFYNPPTHY
430	ANG70 3	HSHHLTDCYFYNPPLHCY	446	ANG72 1	MVDECYFYNPPPHCYSNT
431	ANG70 4	AQVDCYFFPNPTHYCFDR	447	ANG72 2	PLRSYMDCYWYPNPPHCY
432	ANG70 5	MGDDCYFYNPPPRCYVKP	448	ANG72 3	WLGRLSDCYFYNPPHCY
433	ANG70 6	FLADCYLFPNPPHCYLDY	449	ANG72 4	FHIDCYFYNPPPHCYTGA
434	ANG70 7	LGEDCYWYPNPPHCYGM L	450	ANG72 6	NFRECVFYNPPPHCYDFG
435	ANG70 8	NDSVVSECYFFPNPPHCY	451	ANG72 7	KEIDCYFYNPPPHCYGKW
436	ANG70 9	DCYFYNPPPSCYEVQGAS	452	ANG72 8	TNQDCYFYNPPPHCFRDH
437	ANG71 0	GPWECCFYNPPLHCFKEP	453	ANG73 0	SNAQCYFYNPPLHCYKNA
438	ANG71 1	PSADFAECFFYNPQPQCY	454	ANG73 1	DCYFYNPPPHCYTVEGGK
439	ANG71 2	ASNDIHDCYFYNPPHCY	455	ANG73 2	QPMDCFFYNPPPHCYAEE
440	ANG71 3	SDTDCYFYNPPPHCYWDT	456	ANG73 3	IVSREYDCYFYNPPTHY

457	ANG73 4	SMHDCYYPNPTH CYRGT	473	ANG75 7	IHKLDLDCYYPNPPHCY
458	ANG73 6	DETECYWFPSPAHCYKDS	474	ANG76 2	FSHPFTDCFFYPNPQH CY
459	ANG74 0	LGLDCYFYPNPPDCYHDA	475	ANG76 3	TVYDCYFYPNPGHCYL QL
460	ANG74 1	FDEDCYFYPNPPHCYLLS	476	ANG76 5	MVFHELDCYFYPNPPHCY
461	ANG74 2	EHEACYFYPNPPHCYESS	477	ANG76 6	HSLLHWDCYFYPNPSHCY
462	ANG74 3	PSYNIFECFFFPNPPHCY	478	ANG76 7	QLRECYWFNPNSHCYIES
463	ANG74 4	SESDCYFYPNPPHCYAVV	479	ANG76 9	GLVDCYFYPNPPHCYWPH
464	ANG74 5	HPFDCYFYPNPPHCYTRS	480	ANG77 1	LFENSLGCYFFPNPPHCY
465	ANG74 6	LILDCYFYPNPPHCYTST	481	ANG77 3	FPPWFQDCFFYPNPPVCY
466	ANG74 7	YEFRWTDCYFYPNPPHCF	482	ANG77 4	HALECYFYPNPLHCYTQP
467	ANG74 8	QSQNVVECYFYPNPPHCY	483	ANG77 5	DPVDCYFYPNPAHCYSTV
468	ANG74 9	YRLDLSECYYYPNPLHCY	484	ANG77 6	IVVYSADCFFYPNPRHCY
469	ANG75 1	IPLDCYFYPNPPSCYHSY	485	ANG77 7	RMFDCYFYPNPPLCYNHI
470	ANG75 2	AASQTSDCYFYPNPPSCY	486	ANG78 1	LWYTTVNCYFCPNPLHCY
471	ANG75 5	THLDCYFYPNPPHCYSST	487	ANG78 2	DYLSMLECYFYPNPSHCY
472	ANG75 6	NTNDPFDCFFYPNPPHCY	488	ANG78 3	FMTSGVECYFYPNPPHCY

489	ANG78 4	LFLNPYDCYFYPNPPQCY	505	ANG80 4	VDIDCYFYPNPPNCYNKA
490	ANG78 5	HQMTQIECYFFPNPQHCHY	506	ANG80 5	LLDRFLDCYFYPNPSHCS
491	ANG78 6	PWSPCYWYPNPRFCYEAS	507	ANG80 6	ECYFYPNPAHCYTGTNKE
492	ANG78 7	LLVDCYYPNPTHCSKNS	508	ANG80 7	LPHPHLDCYFYPNPAFCY
493	ANG78 8	DCYFYPNPPHCYHDNEIE	509	ANG80 8	SYVDTTDCYFYPNPQHCHY
494	ANG79 0	PLLPFYDCYFYPNPSHCY	510	ANG80 9	PPLDCYFYPNPPNCYLQ
495	ANG79 1	LVVDCYFYPNPPHCYDYS	511	ANG81 0	WINDCYFYPNPSHCFVGD
496	ANG79 3	RPSMHMECYFYPNPPYCY	512	ANG81 1	YGTDCYFFPNPRNCYKIN
497	ANG79 5	GFLTSLDCYFYPNPPHCY	513	ANG81 2	YSTDCYFYPNPPHCYGPH
498	ANG79 7	EVPDCYYPNPPHCYEAN	514	ANG81 3	PFSSFFDCYFYPNPPHCY
499	ANG79 8	RISSMVECYFYPNPPHCY	515	ANG81 4	YVGHMLDCYFYPNPPHCY
500	ANG79 9	PFSVITECYFYPNPPHCY	516	ANG81 5	SMYDCLYFPNPPHCYIQN
501	ANG80 0	PSADLLDCYFFPNPPHCS	517	ANG81 6	FTQPMVDCYFYPNPPHCY
502	ANG80 1	QQADHIDCYFYPNPPYCY	518	ANG81 7	FNSTLFDCFFYPNPMHCY
503	ANG80 2	STHDCLYFPNPPHCYWPQ	519	ANG82 0	RSLPIYECYFYPNPPHCY
504	ANG80 3	VASWKYDCYFYPNPLHC Y	520	ANG82 2	VSLYYSAICYFYPNPPWCN

521	ANG82 3	SVLDCYFYPNPAHCYENV	537	ANG84 6	LLSVMQDCYFYPNPSHCY
522	ANG82 4	VSTDCYFYPNPPHCYSVL	538	ANG84 7	PPSSYECYFYPNPAHCY
523	ANG82 5	QGTHMLDCYFYPNPPNCY	539	ANG84 8	SHTDCYYPNPPHCYLEN
524	ANG82 6	TPSDCFFYPNPPHCYLMN	540	ANG84 9	AGHECYFYPNPPHCYSEQ
525	ANG82 7	TWGVCFYFYPNPPHCYEQL	541	ANG85 0	AGMNDFDCYFFPNPPHCF
526	ANG82 9	VEEACYFYPNPPHCYEAV	542	ANG85 3	GSRDCYFYPNPKYCIQD
527	ANG83 2	DDSDCFFYPNPPRCYETY	543	ANG85 4	SDSFLRDCYFYPNPPHCY
528	ANG83 4	YYYSYTHCYYPNPTHCY	544	ANG85 5	AWKDCFFYPNPSFCSYSS
529	ANG83 5	MTWFPNDCYFYPNPPYCY	545	ANG85 6	PSLYELDCYFYPNPPHCY
530	ANG83 6	LQLECYYPNPTHCYETR	546	ANG85 7	YLHSFEDCYFYPNPAHCY
531	ANG83 7	MGISFLDCYFFPNPQHICY	547	ANG85 8	LTIEHQDCYFYPNPPHCY
532	ANG83 8	PSPYYSDCAWYPNPPYCY	548	ANG86 1	YVMGGDDCYFYPNPPECY
533	ANG84 0	SMSVYIDCFYPNPPRCY	549	ANG86 2	GNIACYFYPNPPHCYNVH
534	ANG84 1	DCYFYPNPTHCYLKGGFV	550	ANG86 3	SGMECYFFPNPPHCYDLK
535	ANG84 4	DHSACYAFPNPSSCYNSR	551	ANG86 6	LGLRHYACYLYPNPPHCY
536	ANG84 5	PLNACYFYPNPPHCYFLK	552	ANG86 7	ARSSQFECYFYPNPPHCY

553	ANG86 9	YPGPFTGCFYPNPLQCY	569	ANG88 9	FSPGEVDCYFYPNPPHCK
554	ANG87 1	NERDCYFYPNPPHCYQNG	570	ANG89 0	ADTDCYFYPNPPHCYDIT
555	ANG87 2	LDSECFYFYPNPPHCYNL	571	ANG89 1	LSLELSECYFFPNPPHCY
556	ANG87 3	PYLDCAEYPNPLYCYESE	572	ANG89 4	AVLEHFDCYFYPNPPHCY
557	ANG87 4	IGYPFSDCYFYPNPPHCY	573	ANG89 5	MLWDMSGCFYFYPNPPHC Y
558	ANG87 5	WNFDCYFYPNPPCLYNME	574	ANG89 6	SKQDCYFYPNPSHCYLDQ
559	ANG87 7	AAVECLFYPNPPHCYERA	575	ANG89 7	YDLLLHDCYVFPNPPHCY
560	ANG87 9	SNVDCYFYPNPPNCFVHD	576	ANG89 8	ECYFYPNPPDCFYLHQR
561	ANG88 0	VLSFFQDCYFYPNPANCY	577	ANG89 9	DHVECYFYPNPLHCYKDR
562	ANG88 1	SPPVFWECYFYPNPTHCY	578	ANG90 1	PRPLVIDCYFFPNPPHCY
563	ANG88 2	PNQSNYDCYFYPNPPHCY	579	ANG90 2	DCYFYPNPPHCYIEHKPS
564	ANG88 3	LAFDLSDCYFYPNPPHCS	580	ANG90 3	SHFSFKDCYFYPNPAHCY
565	ANG88 4	FNEECYFYPNPPHCYGEY	581	ANG90 4	SLRDCYFYPNPAHCRNNM
566	ANG88 5	LVVTAFCYFYPNPPYCY	582	ANG90 6	YGNECYFFPNPPHCYHRD
567	ANG88 6	SLNPSVDCYFYPNPAHCY	583	ANG90 7	DTLDCYFYPNPPHCYSSQ
568	ANG88 7	ALHDCYFYPNPQHCHYA	584	ANG90 9	QWNPHYHCFYFYPNPPHCY

585	ANG91 1	TSLDCYFYPNPPHCYETP	601	ANG93 2	SWPNHMECYFFPNPPHCY
586	ANG91 2	KWARGMECFFYPNPPDCY	602	ANG93 4	KSVGNTDCYFFPNPPHCY
587	ANG91 3	RLVDCYYYPNPLHCYDRS	603	ANG93 5	TIYDCYIYPNPRHCYKLN
588	ANG91 4	THKDCYFFPNPPHCYTKT	604	ANG93 6	ECYFYPNPPHCYHALTSK
589	ANG91 5	PLKDCYFYPNPLHCYLV	605	ANG93 7	FYQSWVDCYFYPNPPHCS
590	ANG91 6	APHILQDCYFYPNPRHCY	606	ANG93 9	YALDLGGCYWFPNPPHCY
591	ANG91 7	LSILYPSCYFYPNPEHCQ	607	ANG94 0	SIFLSLDCYFFPNPSNSL
592	ANG91 8	ECYFYPNPPECYNVDDQA	608	ANG94 2	GVYSFDQCYVFPNPPDCY
593	ANG91 9	ECYFYPNPPHCYVLKQOI	609	ANG94 3	VVLHYGDCYYPNPPYCY
594	ANG92 0	ISTRNTDCYFYPNPPHCY	610	ANG94 4	RALDCYFYPNPQHICYQGI
595	ANG92 3	FYYDCFFYPNPPNCYNSF	611	ANG94 5	SPHECYFYPNPPHCYADR
596	ANG92 4	FSHLEQDCYFYPNPPHCY	612	ANG94 6	DVQIEFDCYFYPNPPYCY
597	ANG92 5	SPVDCYFYPNPPHCYDWD	613	ANG94 7	YPMNSHDCYFYPNPPQCY
598	ANG92 6	PYQLMTDCYFFPNPPHCY	614	ANG94 8	SPAHCSYCPFPNNSCFY
599	ANG92 9	ESFQNMDCYFYPNPPYCY	615	ANG94 9	LRLDLEECYWYPNPPYCK
600	ANG93 0	PRKSFHDCYFYPNPPHCY	616	ANG95 1	GSALLSDCYFYPNPPHCY
617	ANG95 2	SVLALEDYFYPNPHHCY			
618	ANG95 4	PTAVLMECYFYPNPDYCY			
619	ANG95 5	YGTECYFYPNPAHCYSNE			
620	ANG95 6	HWYFCPNPPNPPQCHLKW			

Связывающие ФРЭС домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикации онный номер	Пептидная последовательность	655	VGf34	TCWKATPWWLCA
			656	VGf35	ACWKAAPWWLCD
629	VGf1	WCWVPGPIQCY	657	VGf36	TCWKAAPWWLCD
630	VGf2	CMWEMPWWFCQ	658	VGf37	ACWKAPWWLCD
631	VGf3	TCTWVMPWWFCE	659	VGf38	TCWKATPWWLCD
632	VGf4	ICLWQMPWWFCE	660	VGf39	TCWKAAPWWLCA
633	VGf6	GDWEWVWDWCF	661	VGf40	ACWKAAPWWLCA
634	VGf8	ECRWVMPWWFCE	662	VGf47	WCAGFPPNYPY
635	VGf9	ACWKAMPWWFCT	663	VGf48	WCNGFPPNYPYCS
636	VGf10	FCMVQVPWWLCK	664	VGf49	WCNGFPPNYPY
637	VGf11	FYQWFEEQLM	665	VGf53	WCNGFPPNYPYCA
638	VGf13	MCWLVPGPMICH	666	VGf57	GCVKEVPWWLCI
639	VGf14	FCMYKPLMFLCP	667	VGf59	GCVKQVPWWLCV
640	VGf15	HCWWLYTWDPCI	668	VGf60	GCVTQVPWWLCI
641	VGf16	HCYVYVPWWLCP	669	VGf62	ACVKEVPWWLCI
642	VGf17	MCWTPVPWWLCL	670	VGf63	GCVKQVPWWLCI
643	VGf18	TCWKPTPWWLCD	671	VGf65	ACVAEVPWWLCI
644	VGf19	SCWFKIPWWLCP	672	VGf67	GCVKAAPWWLCV
645	VGf20	YCQPMWWNMACW	673	VGf69	GCVKEVPWWLCV
646	VGf21	YCFWIPPEWYCV	674	VGf70	GCVKPAPWWLCI
647	VGf23	GCWEWRPHWLCV	675	VGf71	GCVTEVPWWLCI
648	VGf24	ECTWTMPWWFC	676	VGf72	GCVAQVPWWLCI
649	VGf25	TCWKAPWWLCA	677	VGf76	ACVKEAPWWLCI
650	VGf27	TCWKPTPWWLCA	678	VGf82	GCVAEVPWWLCI
651	VGf29	KCNFNPWKAACG	679	VGf83	ACVKQVPWWLCI
652	VGf30	TCWKAPWWLCD	680	VGf85	GCVKPAPWWLCV
653	VGf31	TSWKAAAAGLCA	681	VGf95	GCVAEVPWWLCT
654	VGf32	ACWKATPWWLCD	682	VGf99	GGVKQVASWLG
			683	VGf10 0	GAVTEAAWWLAI
			684	VGf10 1	GGVEAAAWWVGI

685	VGf10 4	GCVKQVPWGLCI
686	VGf10 7	VEPNCDIHVMWEWECFER L
687	VGf13 1	WCAGFPPTSAGY
688	VGf14 0	TAWEEAAASWLCA
689	VGf14 6	TCGKAAAALAA
690	VGf15 2	TGWKPTAWGVGD
691	VGf15 6	ASWKPAPWWLCA
692	VGf16 2	TSGKATPGGACD

Связывающие рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pIGF1) домены MRD

SE	Иденти	Пептидная	721	IGF45	LCQEFANELCF
Q	фикации	последовательность	722	IGF46	LCQEFKELCF
ID:	онный		723	IGF48	LCLEFEELCF
	номер		724	IGF49	LCYEFEEELCF
698	IGF3	DSGFYMGLHK	725	IGF50	LCMEFQELCF
699	IGF10	MDQFHWALLG	726	IGF51	LCHEFEELCF
700	IGF21	LCQEFHELCF	727	IGF52	LCYEFHELCF
701	IGF22	LCDEFVELCF	728	IGF53	LCDEFQELCF
702	IGF23	LCEEFHELCF	729	IGF54	WCQIQAFHCRGQAGQGG GSAGGGSSCNILQMCS
703	IGF24	LCDEFKELCF	730	IGF55	FECVLWNFVCK
704	IGF25	LCAEFPELCF	731	IGF56	LCAEFPVLCF
705	IGF27	ICHIFWQTCNGQAGQGGG SGGSKCDILEMMCN	732	IGF57	LCTEFKELCF
706	IGF28	LCMEFPELCF	733	IGF59	LCQEFNELCF
707	IGF29	LCMEFKELCF	734	IGF60	AMTLDEWIRMRGQAGGS WVDPAFWGDF
708	IGF30	LCEEFVLCF	735	IGF61	FYGWFEELQIL
709	IGF31	LCQEFIELCF	736	IGF64	FYEQLKLVY
710	IGF32	LCLEFHELCF	737	IGF66	FYEWFEELI
711	IGF33	LCQEFSELCF	738	IGF67	FYEWFEAQIM
712	IGF34	LCEEFANELCF	739	IGF68	FYDWFDMHVK
713	IGF35	LCFEFVELCF	740	IGF69	SFYDMIELLIGQAGQGGGS GGGGGGSTIHFAQEHP
714	IGF36	LCSEFQVLCF	741	IGF72	FYEWFEAQVM
715	IGF38	LCLEFVELCF	742	IGF73	FYDWFAEQVI
716	IGF39	LCWEFPVLCF	743	IGF74	FYEWFTQVN
717	IGF40	LCEEFIELCF	744	IGF75	FYEWFEQVI
718	IGF42	WCEISTTFCNGQAGQGGG GGGSQCQLLHMFCH	745	IGF76	QFYEWFEAQT
719	IGF43	LCMEFEQLCF	746	IGF77	FYEWFLQMD
720	IGF44	LCLEFRELCF	747	IGF78	VHWEGYQWVY
			748	IGF79	FYETLFELAY
			749	IGF82	FYEWFEAALI

750	IGF83	FYDWFDMPVQ	782	IGF278	VPALCWEFPELCHFHYQ
751	IGF84	FYEWFEPPQVT	783	IGF279	TPSLCLEFSELCFADG
752	IGF85	EFYYWFFDQY	784	IGF280	VHWLCAEFEEELCFDQT
753	IGF91	FYEWFDMPVK	785	IGF281	LHFLCLEFQELCFDSN
754	IGF92	ADFYQWFQNPV	786	IGF282	VPPLCLEFPELCFDTS
755	IGF93	SFYAWFDEQV	787	IGF283	DHWLCIEFSELCFGKS
756	IGF95	EVWEGYDWLY	788	IGF284	EHPLCEEFKELCFGTN
757	IGF196	SHPLCTEFIELCFGFE	789	IGF285	DWRLCQEFTELCFMDG
758	IGF253	VPFLCLEFSELCFDTP	790	IGF286	YLSLCAEFTELCFHTE
759	IGF254	ADLLCAEFTELCFDVI	791	IGF287	PPLLCFEFPELCFGYE
760	IGF255	AHPLCLEFSELCFEAV	792	IGF288	DHKLCNEFPELCFHDV
761	IGF256	PHPLCQEFEEELCFETV	793	IGF289	AHALCLEFLELCFEER
762	IGF257	ASQLCGEFPELCFDKV	794	IGF290	IPFLCYEFQELCFGTL
763	IGF258	IPLLCFEFVELCFDLT	795	IGF291	AELLCREFTELCFLRD
764	IGF259	DDALCKEFPELCFQNV	796	IGF292	APGLCIEFRELCFDEK
765	IGF260	IPYLCLEFPVLCFQDT	797	IGF293	YYALCAEFQELCFDEH
766	IGF261	PHILCLEFAELCFDHL	798	IGF294	VPLLCFEFPELCFGYQ
767	IGF263	VPALCLEFKELCFHDR	799	IGF295	VPSLCIEFSELCFDSP
768	IGF264	TPALCLEFWELCFDEA	800	IGF296	DYALCLEFRELCFGMN
769	IGF265	VPPLCMEFTELCFHDP	801	IGF297	AHRLCQEFVELCFGET
770	IGF266	AHPLCVEFSELCFNED	802	IGF298	PHFLCMEFPVLCFNDS
771	IGF267	IPMLCWEFTELCFDLN	803	IGF299	IPQLCLEFSELCFGMT
772	IGF268	VPQLCLEFQELCFGEH	804	IGF300	RTDLCMEFYELCFHSD
773	IGF269	VPSLCLEFPELCFNEA	805	IGF301	KPPLCEEFHLCFDLT
774	IGF270	PHPLCLEFIELCFGTH	806	IGF303	PHKLCLEFRELCFDEL
775	IGF271	IPFLCLEFEELCFHLD	807	IGF304	LHFLCVEFVELCFDEA
776	IGF272	EHPLCLEFPELCFSHP	808	IGF305	VPRLCYEFPELCFHKQ
777	IGF273	PHYLCLEFSELCFDER	809	IGF306	PHPLCLEFEELCFTER
778	IGF274	TPFLCLEFHLCFGEH	810	IGF307	AARLCSEFPELCFHAS
779	IGF275	PQLLCLEFAELCFWDI	811	IGF308	RHSLCIEFPELCFDEY
780	IGF276	PHALCREFHLCFEEKS	812	IGF309	AGRLCAEFHELFCGTN
781	IGF277	RLPLCVEFSELCFDLR	813	IGF310	ASRLCMEFPELCFDRK

814	IGF311	HPALCVEFVELCFGHE	846	IGF345	PALLCQEFaelCFDMP
815	IGF312	IPPLCLEFQELCFGWD	847	IGF346	YLHLCREFTELCFDEG
816	IGF313	DDALCAEFNELCFEVT	848	IGF347	AHWLCLEFKELCFGND
817	IGF314	APPLCIEFEELCFGFL	849	IGF348	VPSLCFEFEELCFDWS
818	IGF315	SHPLCLEFHLCFTDA	850	IGF349	VPSLCLEFQELCFTTE
819	IGF316	IHPLCLEFTELCFHEV	851	IGF350	PHPLCLEFPHELFCGAE
820	IGF317	QEPLCVEFRELCFNED	852	IGF351	DSRLCAEFPELFCFEDV
821	IGF318	IPDLCREFEELCFGSK	853	IGF352	AATLCLEFSELCFDMS
822	IGF319	IHPLCKEFPELCFDVD	854	IGF353	IPHLCKEFPELCFEQR
823	IGF320	GPLLCAEFVELCFGDD	855	IGF354	SYLLCREFSELCFDKT
824	IGF321	YPPLCLEFPFLCFWNH	856	IGF355	VPYLCLEFAELCFQVD
825	IGF322	SHNLCLEFVELCFGDV	857	IGF356	VPPLCVEFSELCFDAP
826	IGF323	PPLLCLEFHLCFHIE	858	IGF357	MELLCFEFSELCFGSH
827	IGF324	AHVLCLEFHLCFDMG	859	IGF358	TVALCKEFPELCFDIV
828	IGF325	RPLLCYEFSELCFDIT	860	IGF359	DPYLCLEFEELCFRFV
829	IGF326	HPRLCLEFSELCFDEM	861	IGF360	TPALCLEFAELCFEDS
830	IGF327	IPALCLEFSELCFSTS	862	IGF361	RHPLCVEFPFLCFVDY
831	IGF328	APSLCLEFIELCFDNM	863	IGF362	VHPLCIEFPALCFDTR
832	IGF329	PHPLCREFPVLCFDDT	864	IGF363	YLALCYEFRELCFGDQ
833	IGF330	VHPLCLEFAELCFVNY	865	IGF364	APLLCLEFPFLCFEDI
834	IGF331	VPSLCMEFPFLCFTTE	866	IGF365	VHYLCLEFQELCFDEL
835	IGF332	VPLLCLEFAELCFHVE	867	IGF366	RPSLCLEFRELCFDTL
836	IGF334	AMRLCNEFHLCFGVV	868	IGF367	APSLCWELFKELCFDSE
837	IGF335	EERLCKEFPELCFMMT	869	IGF369	AHALCLEFSELCFDVT
838	IGF336	TPSLCREFTELCFDSD	870	IGF370	TQYLCIEFAELCFDTI
839	IGF337	VHPLCMEFTELCFHLR	871	IGF371	AGALCREFAELCFHNNH
840	IGF338	AGALCKEFPILCFIME	872	IGF372	TPPLCFEFPFLCFHLS
841	IGF339	EHPLCREFSELCFGMG	873	IGF373	SERLCLEFAELCFGHG
842	IGF340	SSSLCLEFSELCFHDD	874	IGF374	AHWLCLEFPFLCFDKL
843	IGF341	ALRLCNEFPFLCFGGT	875	IGF375	DLHLCREFSELCFSSP
844	IGF343	IPLLCLEFPVLCFENE	876	IGF376	TPSLCLEFPFLCFHGT
845	IGF344	APLLCLEFPFLCFGWD	877	IGF377	APSLCLEFRELCFEDY

878	IGF378	VPSLCLEFADLCFHDI	910	IGF412	PHWLC EEFEELCFEAI
879	IGF379	MPALCLEFREL CFEDP	911	IGF413	DRLLCSEFYELCFDDN
880	IGF380	YMRLCYEFSEL CFHAS	912	IGF414	PAALCLEFSEL CF TQQ
881	IGF381	APSLCTEFREL CF DII	913	IGF416	YSSLCLEFSEL CF DQM
882	IGF382	VPPLCLEFAEL CFYAD	914	IGF417	RPALCGEFKEL CF DGA
883	IGF384	TPSLC VEFREL CF DDL	915	IGF419	YNALCNEFIEL CFHVN
884	IGF385	QEALCIEFH EL CFEEY	916	IGF420	PHWLCLEFAEL CF GSG
885	IGF386	ADRLCREFSEL CF DVV	917	IGF421	APPLCLEFREL CF GEQ
886	IGF387	AHPLCLEFPVLC F DDE	918	IGF423	IPQLCLEFTDL CF EDT
887	IGF388	RPVLCIEFP EL CFNET	919	IGF424	VPHLCIEFAEL CF EGT
888	IGF389	DVKLCQEFPEL CFESY	920	IGF425	RMDLCREFTEL CF TDS
889	IGF390	VPALCFEFAEL CFHIE	921	IGF426	AHQLCIEFAEL CFNDG
890	IGF391	AYALCHEFQEL CFETT	922	IGF427	PPLLCLEFPVLC F DSP
891	IGF392	AALLCHEFTEL CFLEA	923	IGF428	PHALCLEFSEL CFWSL
892	IGF393	QHLLCIEFNEL CFNDV	924	IGF429	VHQLCMEFEEL CF GGA
893	IGF394	IPPLCLEFWEL CF DAP	925	IGF430	PHALCLEFH EL CFDSN
894	IGF395	AHRLCMEFAEL CF GNA	926	IGF431	YRALCFEFAEL CF DEN
895	IGF396	RPSLCQEFVEL CFEEA	927	IGF485	EFYQGLERLV
896	IGF397	PHRLCIEFP EL CF DVV	928	IGF498	YFYWFQEMVM
897	IGF398	AQALCLEFMEL CF DVR	929	IGF500	FYQWFEKQLM
898	IGF399	ADALCAEFKEL CFNIK	930	IGF503	QEFYNWFALQI
899	IGF400	GHKLCTEFIEL CF DVN	931	IGF504	ECDFYCGIYTL
900	IGF401	DEQLCLEFVEL CF EQT	932	IGF507	LCREFQELCF
901	IGF402	VYALCREFSEL CFYGN	933	IGF511	GFYEFWEMQL
902	IGF404	AGALCAEFPEL CF GGT	934	IGF512	FYEFWQAQLT
903	IGF405	PPSLCLEFP EL CFHRS	935	IGF514	GFYEFWEMQM
904	IGF406	IPALCIEFSEL CFWPS	936	IGF515	YLSPDDMCYEFEL CF
905	IGF407	VQPLCLEFSEL CFDSA	937	IGF516	KTSQDMLCWEFEEL CF
906	IGF408	EHILCQEFSEL CFNRD	938	IGF517	QTTPHILCLEFP EL CF
907	IGF409	VPPLCLEFTEL CF IID	939	IGF518	LTSWELLCFEFEEL CF
908	IGF410	IPPLCLEFWEL CF DER	940	IGF519	LVSPEDLCQEFVEL CF
909	IGF411	PHPLCREFPDL CF DHS	941	IGF520	WYVDPPLCFEFP EL CF

942	IGF521	LCAEFAELCFEDTVRY	968	IGF553	LCAEFIELCFDLEPGI
943	IGF522	PGLEIPQLCKEFPELCFTM DDDF	969	IGF554	LSPEFPDLCLYFGLDC
944	IGF523	LCAEFRELCFHLPQA	970	IGF555	GSLSVPKLCKEFPCLCFDK KMSG
945	IGF524	MRVESLQLCKEFPELCFFS HGWT	971	IGF556	QRFEPDDLCKEFPELCFNL NMNV
946	IGF526	RLTPQDLCEFSSELCF	972	IGF557	LCLEFAELCFGWDDNS
947	IGF527	LSSYDVLQCEFSSELCF	973	IGF559	RIYPSELCLEFAELCF
948	IGF532	GPMEVHDLCKEFSELCF	974	IGF560	QSYEHWLCQEFHELFCF
949	IGF533	LRPESIALCKEFPELCFEG WKSA	975	IGF561	SSPPHWLCLEFEELCF
950	IGF534	QSLDIPGLCKEFPELCFEM TGMR	976	IGF562	RMSEMDLCAEFFELCF
951	IGF535	LCSEFIELCFDQVPLR	977	IGF563	LCAEFHELCFDISNQE
952	IGF536	TSSALKLCQEFPELCF	978	IGF564	LCFEFAELCFDTEFYN
953	IGF537	LSSYMLLCMEFSSELCF	979	IGF565	PRLCKEFPELCFEVPVIGN EEHYSL
954	IGF538	YVIPHPLCLEFSSELCF	980	IGF566	QGSKVLELCKEFPELCFDR ANRL
955	IGF539	DPSVPALCHEFPELCF	981	IGF567	TLSPHPLCVEFPELCF
956	IGF540	QGWTHPLCLEFQELCF	982	IGF568	SEWYHPLCVEFSSELCF
957	IGF541	FALVPSLCLEFNELCF	983	IGF569	SAGEHWLCVEFQELCF
958	IGF542	MSSNSIKLCKEFPCLCFHIH GKD	984	IGF570	LSPAELLCCLDFPELCF
959	IGF543	LCLEFRELCFDLSEPH	985	IGF571	LTPAERLCDEFVPLCF
960	IGF544	MRLESLELCKEFPELCFST DLTL	986	IGF572	LCKEFPELCFDERDKK
961	IGF545	TMLEIPQLCKEFPELCFHD TTVW	987	IGF573	LTSADLLCSEFRELFCF
962	IGF546	LCQEFKELCFEAEFQA	988	IGF574	RITPNDLQEFQELCF
963	IGF547	KVTPFMLCQEFPELCF	989	IGF575	FAPPHPLCIEFQELCF
964	IGF548	APGEHWLCLEFQELCF	990	IGF577	VGKEVFRLCKEFPELCFYF AISQ
965	IGF549	VFQMHPLCLEFPELCF	991	IGF578	LRFESPLCKEFPELCFFES NGW
966	IGF551	YEPPHSLCLEFVELCF	992	IGF579	YRAERPELCKEFPELCFFE NDWW
967	IGF552	PPIMHPLCLEFAELCF	993	IGF580	LCREFIELCFDIETEV

994	IGF581	RTVVPPLCLEFPELCF	101	IGF614	QQPNTWEGYSWLYSQV
995	IGF582	LYTPQSMCAEFTELCE	2		
996	IGF583	GLVQHNLCLFVELCF	101	IGF616	DLWEGYLWFDSQLGD
997	IGF584	IDRPPDLCKEFPELCF	3		
998	IGF585	VFLDAPELCKEFSELCEGY SDSL	101	IGF617	IPLLCLEFPVLCFENE
999	IGF586	RFSESPPLCKEFPELCFWSP PFP	101	IGF618	SYDYSQGEWEGYQWLY
100	IGF589	RDFTYDTDWEGYSWLY	101	IGF619	HDSALMAEWEGYNWLY
0			6		
100	IGF592	IPGLCLEFPELCFHQW	101	IGF623	QPWEGYKWLIEAA
1			7		
100	IGF596	EPWEGYSWLY	101	IGF625	PAASAWEGYKWLIDQV
2			8		
100	IGF600	PLWEGYSWLYSQEAGN	101	IGF630	LSTDWSGDWEGYAWLY
3			9		
100	IGF602	FASGEYPPWEGYRWLY	102	IGF633	LLASEWEGYEWLYGQI
4			0		
100	IGF603	WGDDHWEGYDWLYAQT	102	IGF127	ALPECQDLMFYECFTL
5			1 0		
100	IGF604	RDEAEWEGYNWLYSQM	102	IGF127	FYNLCQFVGMEFYQCLD WL
6			2 1		
100	IGF605	DTWEGYLWLYAQTADA	102	IGF127	RDPVCETKDVIFYQMLCTV AF
7			3 2		
100	IGF607	YTRSLGDPWEGYSWLY	102	IGF127	RSLVCSEEEPFYLALCRLT H
8			4 3		
100	IGF611	SAWEGYAWFDLQVESG	102	IGF127	SVLGCDDVGFYQCLEFL
9			5 5		
101	IGF612	YSIQDHGAWPGYDWLY	102	IGF127	LEHLCQTRDGFYELMCTL AL
0			6 6		
101	IGF613	QWGHKSEQWEGYSWLY	102	IGF127	AARWCDMQQHSFYECCLQ VL
1			7 7		

102 8	IGF127 8	NALGCQEEWETLDQCLM RL	104 4	IGF133 1	LEDWCLHLDFYQCLEAV
102 9	IGF127 9	AVPKCPGWDFYTALECLS RT	104 5	IGF133 2	TMPTCEKLNIFYECMNLL
103 0	IGF128 0	EPRLCHNYPDFYQCMSFL	104 6	IGF133 3	SLSICTYADFYECMDLL
103 1	IGF128 1	ASQTCIGMDFYSGLECLL GW	104 7	IGF133 4	YIRECHELQNFTEGIHCLV TR
103 2	IGF128 2	WVEECHNLHWDLKHCLM HQ	104 8	IGF133 5	TFKDCAHIPGIDFCLWRL
103 3	IGF128 3	SVPCIDYYGDWFLCLAA P	104 9	IGF133 6	SWDPCFESDEFHMKLCVL MD
103 4	IGF128 4	NNTLCRGVPTFEECVFIL	105 0	IGF133 7	LLSECYDKDFYECLGLL
103 5	IGF128 5	SNGSCHIVDFYGWFQCQT SA	105 1	IGF133 8	YQDMCEDMSFYECLEVL
103 6	IGF128 6	LTEPCSQHSMFYMLCEL AF	105 2	IGF133 9	AAANCHWPDEALQELCR YFA
103 7	IGF128 7	RDRVCHNKTFHCLFSIFP DG	105 3	IGF134 0	TGICENPDEFYRQLCLLVE
103 8	IGF129 0	YGLGCSQMDFYQCLDML	105 4	IGF134 1	WEHHCRRSHLDFYGLSS I
103 9	IGF129 1	DVSHCHIMFWDFQQCLEY L	105 5	IGF134 7	AAGSPLDDCYGYTGFYQG MCLLEL
104 0	IGF129 2	NPATCYQKSYQFEQCLMY L	105 6	IGF134 8	PSYHCSNMDYTFYECLMY L
104 1	IGF132 8	VDVLCHHVDFYECMDRL	105 7	IGF134 9	EQSYCSQNDMFYDWFCA LVS
104 2	IGF132 9	WLSQCEAKEIDFYMCLAG QAG	105 8	IGF135 4	GEEVCWVQEPFYSTLCILA F
104 3	IGF133 0	GPKECIGVPNFDLCMAML	105 9	IGF135 5	NPFWCSWGHQFDNECDS MV

106 0	IGF135 6	WASTCQQTFYSMNRCLSQ W	107 6	IGF139 2	SYGTRWNPSFESNQFHK LCVLMGK
106 1	IGF136 0	LMELCAMDEDYYLWFCR AVE	107 7	IGF139 5	PGVSADALCYEFPVLCFY DV
106 2	IGF136 4	SAVQCDLRLMCWQLRGP SRP	107 8	IGF139 6	HALCYEFPVLCFYDV
106 3	IGF136 5	PSEICITEGLGFYQCLLKL	107 9	IGF140 1	TSRRCEEYQDPLKEVCRY FL
106 4	IGF136 6	WVDKCHQEMMEFHECLK YV	108 0	IGF140 5	AHALCYEFPVLCFYDVG
106 5	IGF137 0	ARCECWESQFYWDLCSLA L	108 1	IGF140 6	AHALCYEFPVLCFYDV
106 6	IGF137 1	CTATCLEDQGFYWNMCK LVF	108 2	IGF140 8	DFYICLEHLLNVPGYHCV MTNG
106 7	IGF137 3	AYDCRKHHMNFYECLTY L	108 3	IGF140 9	DALCYEFPVLCFYDV
106 8	IGF137 6	VGQMCSMGLELDRMKCN PCY	108 4	IGF141 1	NLMECHALDFNQGMQCL QAY
106 9	IGF137 8	LVDICQRQELDFYSCLRSV	108 5	IGF141 3	NLMECHALDFYQGMQCL QPYPHP
107 0	IGF137 9	TGSDCYFYKHLYSLCVEV E	108 6	IGF141 4	DLMECHGLDFYKGMECL QAYG
107 1	IGF138 0	ESGDCPWLGHVSFEELM WL	108 7	IGF142 1	AHALCYEFPVLCFYDV
107 2	IGF138 3	LHSVCFEAPEWQQCLMQR	108 8	IGF142 2	NLMECHALDFNQGMQCV QAY
107 3	IGF138 6	PGVSAHALCYEFPVLCFY DVG	108 9	IGF143 0	AHALCYEFPVLCFYDVG
107 4	IGF138 7	AGVSADALCYEFPVLCFY DVG	109 0	IGF143 2	AYVCSNLNHCALDFNQ MQCLQAYG
107 5	IGF139 0	DGESYFYVCLEHLLNVP YHCVMTNG	109 1	IGF143 7	VTEARTNDCNTTTFYHWF DCQLGTG

109 2	IGF144 3	NLMHCHGLDFYQGMQCL QAY	110 8	IGF199 2	REELCSVSPFDYHCRLFS
109 3	IGF144 5	EAECRYPDLDLWLCYF SG	110 9	IGF199 3	LSYTCQHFDLPWELCLSL H
109 4	IGF144 6	DALCYEFPVLCFYDVG	111 0	IGF199 4	VISECEGLTFYQCMASL
109 5	IGF189 5	MAVGCTWVESCHWA	111 1	IGF199 5	WEEWCVDSDFYTQLCML AW
109 6	IGF189 6	ALPECQDLMFYECLFT	111 2	IGF199 6	REPLCIQDDPIMYLHCYFS V
109 7	IGF189 7	FYNTCQFVGMEFYQCLD W	111 3	IGF199 7	MSYTCEDFDLPWELCLSL H
109 8	IGF189 9	SVLGCDDVGFYQCLEF	111 4	IGF199 8	DDLDCCLTFYECMAAL
109 9	IGF190 0	AARWCDMQQHSFYECLQ V	111 5	IGF199 9	WSNVCQARNMAFQECLE YL
110 0	IGF190 4	EPRLCHNYPDFYQCMSF	111 6	IGF200 0	EDLGCLYLTFNQCMMWL
110 1	IGF190 5	ASQTCIGMDFYSGLECLL G	111 7	IGF200 1	FAHECSFHKLNFYQCLSFE
110 2	IGF190 6	SNGSCHIVDFYGWFCQQT S	111 8	IGF200 2	LMDFCYVYPNICGCSN
110 3	IGF198 7	ALAECIFEPTFEDCMWIL	111 9	IGF200 4	SRFVCQHDWGFYECLSM
110 4	IGF198 8	VDMQCQVHGMTFYECLM RL	112 0	IGF200 5	ASHICHLIPTIEQCLFSL
110 5	IGF198 9	TLPECLYAPTFEICVEYL	112 1	IGF200 6	VISECEGLTFYECMAAL
110 6	IGF199 0	WEERCVDSDFYTQLCML AW	112 2	IGF200 9	VDMLCQVHGMTFYECLM LL
110 7	IGF199 1	GTVLCPEDMDFYECMTFI	112 3	IGF201 0	WEEWCVDSDFYTQLCLL AW

112 4	IGF201 1	WDRWCVTEELPEQLCFLD G	114 0	IGF203 0	QSLTCNDFTDWQSLCRC
112 5	IGF201 2	MSYTCEDFDLPCELCLSLH	114 1	IGF203 1	PREACHDYDVVLHQLCM YFV
112 6	IGF201 3	GLDSCQAYFYQFFCEVF R	114 2	IGF203 3	EDLGCVCLTFYECMIAL
112 7	IGF201 4	VDMQCQVHGMYFYQCLM RL	114 3	IGF203 4	IPGLCLE FPELCFHQW
112 8	IGF201 5	EDLGCMYLTIFYECMIWL	114 4	IGF203 5	LCWEGYKWFYDQIKPD
112 9	IGF201 6	VSALCEDLEFYECILAL	114 5	IGF203 6	GFHHAYY KYRGQAGQGS ATGGSSRITP SDLCKEFPEL CF
113 0	IGF201 7	DVRECEGLTFYECMAAL	114 6	IGF203 8	RCLANSY HCSGQAGQGS ATGGSSRITP SDLCKEFPEL CF
113 1	IGF201 9	TAWCHAAGLTFTQCLLW L	114 7	IGF204 0	GSYCAPDWHN CFGQAGQGS ITPSDLCKEF PELCF
113 2	IGF202 0	CEEWCVDSDFYTQLCML AW	114 8	IGF204 1	IPLLCLE FPVLCFENE
113 3	IGF202 1	GISECEGLTFYECMAAL	114 9	IGF204 2	SLEHLCQTRDGFYELMCT LA L
113 4	IGF202 2	EYKVCTSNDTFHWGICAL LK	115 0	IGF204 3	SKDPVCKTKHQFYQMLCT LA F
113 5	IGF202 3	EDLGCMYLTDFECMMWL			
113 6	IGF202 5	WKEWCVDSDFYTQLCML AW			
113 7	IGF202 6	FGQLCDQQVETMIECFER L			
113 8	IGF202 7	DLFDCQGLTFYQCLAAL			
113 9	IGF202 9	LQQICDPEHVTFYQCMTL L			

Связывающие ИЛ-6 домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикации онный номер	Пептидная последовательность	117	ILB89	HHHKMWPQNKSADSHAY
			1		TMM
115 8	ILB59	QRMEKFMHGS	117	ILB91	WPSWTYWYHF
			2		
115 9	ILB60	MLDWVGRRPF	117	ILB92	PWTYNWPWFM
			3		
116 0	ILB65	YFWHSLKTMM	117	ILB94	IWHVFYMVQAGQAG
			4		
116 1	ILB69	DEIPLWEFQF	117	ILB96	RYMHMVWQHI
			5		
116 2	ILB71	FQESWSTWVEGQAG	117	ILB98	PMTMWWFFWKQAG
			6		
116 3	ILB73	VWTAFIQMNS	117	ILB99	HSFVYMHWF
			7		
116 4	ILB75	ECTHPVFVRPCWGQAG	117	ILB100	WPMITWLGWYGQAG
			8		
116 5	ILB76	MWMYGWWWAG	117	ILB101	YMFHWPLFWLGQAG
			9		
116 6	ILB77	FCIYYHNHMIWGQACQA GRCGSYCWWQDYAYKV GQAG	118	ILB102	MQGWLWAKWW
			0		
116 7	ILB82	ICVASICGLVC	118	ILB104	IYAWWKWHWFGQAG
			1		
116 8	ILB84	RWHYWHQHWWGQAG	118	ILB105	TMQPHHIYGYGQAG
			2		
116 9	ILB87	VCKWKQEYCKGQAG	118	ILB106	SLFMPQHNVHGQAG
			3		
117 0	ILB88	WYHWMKEHMGQAG	118	ILB107	YWPSLEWDWS
			4		
			118	ILB114	GCWWVATECWGQAG
			5		
			118	ILB122	GCTWLIDICTGQAG
			6		

118 7	ILB128	HQLQPYIQDL	120 3	ILB232	SYIGYTYCPWDPLTMRCV
118 8	ILB130	WCLAGHVYCQGQAG	120 4	ILB233	LRHFVQYCPWDPLLMAI
118 9	ILB135	GVLKSGFRSLRCMARP	120 5	ILB234	FTIGGPICGWDPLLMRV
119 0	ILB139	PCPGFPPMLCMGQAG	120 6	ILB236	LLCSENWCRWDPLMMSC R
119 1	ILB140	PCMRDWWMCGGQAG	120 7	ILB237	FSQMCGWDPLLMMCRSV N
119 2	ILB142	KCTHLPFQRNCSGQAG	120 8	ILB238	VGSDCMWDPLMMNCRYS Y
119 3	ILB143	FCHHWRPVCLGQAG	120 9	ILB239	LSSLCHWDPLMRCSDYS
119 4	ILB146	ACMLKTHRCKGPGR	121 0	ILB240	YIPPCHWDPLLMDCAQIQ
119 5	ILB148	RCSIWKVYAMCM	121 1	ILB241	MMMECHWDPLLMRQCN PK
119 6	ILB151	ECLWTSLECEGQAG	121 2	ILB242	LPSSCYWDPLLMECSHRN
119 7	ILB158	VCIPMATMCIGQAG	121 3	ILB243	LVPPLFACFWDPLLMNCS
119 8	ILB226	SVSWCFWDPLVMQCKDH T	121 4	ILB244	WSYFNRSCAWDPLLMKC A
119 9	ILB228	VHFNCAWDPLMMRCNYD L	121 5	ILB245	SSFTVVSCMWDPPLMSCM
120 0	ILB229	RMSTCLWDPLLMNCKSL W	121 6	ILB246	LLTKYRTCHWDPLLMLCR
120 1	ILB230	TSEPCFWDPLLMTCDYGS	121 7	ILB247	MVFWDEFCSWDPLLMAC R
120 2	ILB231	QNVNCLWDPLRMNCVEY K	121 8	ILB248	NQLSSIMCHWDPLLMTQC

121 9	ILB249	TFTSCSWDPLLMDCTDFV	123 5	ILB266	APQQCNWDPLLNCVKY V
122 0	ILB250	MVFYCYWDPLLMLCHDQ T	123 6	ILB267	SYVTFLSCHWDPLRMQCI
122 1	ILB252	QVSLCFWDPLMMTCSVPF	123 7	ILB268	FSSVTSACAWDPLIMRCI
122 2	ILB253	ISMPCSWDPLLMNCAKWP	123 8	ILB269	ALALVASVTGTRYQCRV
122 3	ILB254	FEAWCVWDPLLNCVITY T	123 9	ILB270	TKNVTYECMWDPLL MVC T
122 4	ILB255	NRYERFMCWDPLLMMC S	124 0	ILB271	PFYEYTCPCWDPLL MNCL
122 5	ILB256	VIMNQFFCFWDPLLMRCM	124 1	ILB272	KDYFHQYCIWDPLTMNC A
122 6	ILB257	FSSAYSGCYWDPLLMECI	124 2	ILB273	HYTNCVWDPLL MRCYEF A
122 7	ILB258	WSSGLYG CYWDPLLMLC K	124 3	ILB274	AVGWCPWDPLL MN CMG RN
122 8	ILB259	RSSADWSCLWDPLL MQC M	124 4	ILB275	VASVCLWDPLL MQCWSH Y
122 9	ILB260	ITSLERSCMWDPLL MLCS	124 5	ILB276	DGMICLWDPIRMDCYYTE
123 0	ILB261	MHGYCTWDPLL MRCSNY I	124 6	ILB277	DFTFCAWDPLL MACNDQF
123 1	ILB262	STVGCFWDPLL MDCRSM V	124 7	ILB278	DWEECVWDPLL MMCGIS Y
123 2	ILB263	WLSTCLWDPLL MQCIESE	124 8	ILB279	QRNYSEFCHWDPLL ML CQ
123 3	ILB264	SGVSCFWDP LRMICYILP	124 9	ILB280	ALVNRVECSWDPLL MKCS
123 4	ILB265	YLSSCLWDPLL MRCTKLM	125 0	ILB281	NLDVTPYCYWDPLRMVC Y

125 1	ILB282	PRFLIYFCNWDPLLMMCK	126 7	ILB298	WEHGCMWDPLLMQCINR S
125 2	ILB283	YYPITLDCHWDPLLMRCL	126 8	ILB299	GSTCCVWDPLLMKCMSP V
125 3	ILB284	YIEINHPCHWDPLLMDCT	126 9	ILB300	GLYNCTWDPLLMRCSESI
125 4	ILB285	LVDVCSWDPLLMMNCRLA N	127 0	ILB302	DNWSISSCYWDPLLMNCP
125 5	ILB286	FDTFCFWDPLLMDCAAPT	127 1	ILB303	WFLFPWTCPWDPLLMECI
125 6	ILB287	QSNDCAWDPLLMQCLNS L	127 2	ILB304	SVQYETPCYWDPLRMQC Q
125 7	ILB288	MTSHCLWDPLLMVCVNH E	127 3	ILB305	LDFSFFDCSWDPLLMRCS
125 8	ILB289	HFTFCAWDPLLMQCGIDS	127 4	ILB306	FRMKKVDCCWDPLLMMC R
125 9	ILB290	KSTALITCIWDPLLMQCR	127 5	ILB307	NAPVWVECMWDPLLMSC V
126 0	ILB291	YTNNMETCAWDPLLMMC Y	127 6	ILB308	GYAWCFWDPLLMKCTW QV
126 1	ILB292	FSGKQMMCAWDPLMMQ CA	127 7	ILB309	DDFLCSWDPLLMDCMVY P
126 2	ILB293	LHLGEWDCYWDPLLMIC R	127 8	ILB310	FEDSCAWDPLLMACSNPI
126 3	ILB294	WLFNGVDCLWDPLLMDC I	127 9	ILB311	LAGSVSGTLLQQTQRT
126 4	ILB295	FHESLLPCFWDPLLMTQC	128 0	ILB312	LVSFCAWDPLLMMNCMWP M
126 5	ILB296	LYMICTWDPLLMDCREDR	128 1	ILB313	LYGECAWDPLLMRCPY Y
126 6	ILB297	LNLLCAWDPLLMSCIETL	128 2	ILB314	GSKRFGICFWDPLLMDCA

128 3	ILB315	YVAVGPSCLWDPLLMMC A	129 9	ILB339	SHIACGWDPLMMMCTQE M
128 4	ILB316	GFGSSWFCSWDPLLMQCQ	130 0	ILB340	ICWWDPLLMDCISTVEPY
128 5	ILB317	SISRAFSCVWDPLL MNCS	130 1	ILB341	MFLSVVDCFWDP LLMEC V
128 6	ILB319	MTQSLSFCHWDPLL MYC V	130 2	ILB342	HCYWDPLLMTCYDSGPW V
128 7	ILB320	LVPYSWYCVWDPLL MDC V	130 3	ILB343	IFEYCVWDPLL RCSLNS
128 8	ILB321	SDNLYFDCHWDPLL MMC R	130 4	ILB344	FVDDCVWDPL MMDCHRY S
128 9	ILB323	LFTMCHWDPLL MDCATV P	130 5	ILB347	KLALLDDCIWDPLL MSCR
129 0	ILB324	FCSWDPMLMDCSTITFDM	130 6	ILB348	WTNWCGWVLPTMLCMY WI
129 1	ILB329	TQMYCWWDPLL MNCTE MS	130 7	ILB349	DWSTLYFCSWDPLL MLCS
129 2	ILB330	LTGYCYWDPLL MNCLEQ G	130 8	ILB350	GQNHCFWDPL MMICLNG H
129 3	ILB331	NHPMCWWDP LMMDCMY FE	130 9	ILB351	TLLTCVWDPLL MQCRDLE
129 4	ILB332	PDTLCIWDPLL MQCRWMP	131 0	ILB352	YVSPCVWDPLL MLCNES W
129 5	ILB333	VNVSWGCVWDPLL MVC S	131 1	ILB353	LCFWDPLYMECSTHLYID
129 6	ILB334	KAVLSNYCYWDPLL MICS	131 2	ILB357	LLAWCFWDPLL MDCVWD S
129 7	ILB335	LGRLVPYCRWDPL SMVCL	131 3	ILB358	YHYLSVNCHWDPLL MEC T
129 8	ILB337	RWKIDVICKVEILQRRCT	131 4	ILB359	FHHFCFWDP LLMGCMNY N

131 5	ILB360	FCVWDPLLMLCQWLEDSS	133 1	ILB387	WLEQCVWDPLLMSCTSY V
131 6	ILB361	FNTQSTDCWWDPLLMLC A	133 2	ILB388	SSPGIDACWWDPLLMDCA
131 7	ILB362	VQLTCFWDPLMMWCSEQ S	133 3	ILB389	LHFVCFWDPLIMDCSPQM
131 8	ILB365	LRAICIWDPLMMLCGTMG	133 4	ILB390	SYAYCYWDPLLMECADP M
131 9	ILB367	ISFPHFICPWDPLLMQCS	133 5	ILB393	VWLVFWPCFLDPISSICN
132 0	ILB368	RSFVCNWDPLMMTCTSDL	133 6	ILB395	SLLECFWDPLMMNCSNGL
132 1	ILB369	PLWSCFWDPLLMDQWT L	133 7	ILB397	SDDWTMECYWDPLLMT I
132 2	ILB370	SHSSNMGCYWDPLMMMC H	133 8	ILB398	ALMFCFWDPLLMRNAN V
132 3	ILB371	RVYECYWDPLIMDCTWD L	133 9	ILB399	NRLMCFWDPLLVCQSD L
132 4	ILB377	FSVNYTPCVWDPLLMRCS	134 0	ILB402	LMQRPVHCVWDPLLMC R
132 5	ILB378	LVALPNSCFWDPLLMTCR	134 1	ILB403	WQCYRRLCMGYPLGILCS
132 6	ILB379	FWVGCPWDPLLMKCTSY N	134 2	ILB404	FRFATFFCYWDPLLMSCR
132 7	ILB380	KLALMSSCLWDPLLMD M	134 3	ILB405	LTFLFYRCSWESVTPGCI
132 8	ILB381	HCYWDPLLMDCKYLILEG	134 4	ILB406	LLLSTYWCSWDPLLMD N
132 9	ILB382	GSIIWWDPPLMSCADLK	134 5	ILB407	SLWLTVLCPWDPLLMA CI
133 0	ILB383	QLFTCHWDPLLMDCTWD S	134 6	ILB408	TSGLCVWDPLMMSCASLL

134 7	ILB409	LIMGCPWDPLLMLCQERR	136 3	ILB437	FFCLWHFCTGDPLKIHCM
134 8	ILB410	SNPICIWDPLLMRCIWYQ	136 4	ILB439	QLFLTLNCSWDPLLMQCL
134 9	ILB412	QSFLMRGCAWDPLLMQCI	136 5	ILB440	SYLGGLACAWDPLLMQCI
135 0	ILB414	LVVNCPWDPLLMACAVN V	136 6	ILB441	GFPECFWDPLLMDCTYWF
135 1	ILB418	STRDCYWDPLLMTYCINI	136 7	ILB445	VFPWCYWDPLMMDCAIQ N
135 2	ILB419	SYQVCCWDPLLMTQCRA R	136 8	ILB450	FCVWDPLLMDCSGNTFYF
135 3	ILB421	YHWQLNGCVWHPLMINC L	136 9	ILB451	TCAWDPLLMCVCRYPAPAF
135 4	ILB423	LCLWDALLMECRIHSFDS	137 0	ILB452	AALECPWDPLMMSCIKTS
135 5	ILB425	FCVWDPLLMHCRFTHDR M	137 1	ILB453	YLPSWLSCSWDPLLMIKS
135 6	ILB426	SMTMCGWNPLGMWCHSL G	137 2	ILB454	HLSLLMDCCWDPLTMQC T
135 7	ILB428	TLVSLGLCAWDPLLMSCA	137 3	ILB455	RWPFCHWDPLMMCSVS Y
135 8	ILB429	SFLFYSSCVWDPLLMQCG	137 4	ILB457	LPLLRFPCDGKQLWKFCL
135 9	ILB430	TLDNCAWDPLLMRGWGQ W	137 5	ILB461	QVSYCPWDPLLMQQLSG
136 0	ILB431	SSIYCLWDPLLMRCATPL	137 6	ILB463	RSIECFWDPLMMECMGY V
136 1	ILB432	RCPWDPLMMMCIEEYMT D	137 7	ILB464	LGMTFYVCPWDPLLMLCI
136 2	ILB436	LCSWDPLMMRCVVMDSL D	137 8	ILB465	YYYSWPMCYWDPHMLFC L

137 9	ILB467	PCYWDPLL MRCMLQVDN W	139 2	ILB482	HVGWHAMNPWGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP
138 0	ILB469	FFSDCNWDPLL MHCANKL	139 3	ILB483	VWTAFIQMNSGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP
138 1	ILB470	RPSLVPICYWDPLL MICI	139 4	ILB485	PDWITWQPAWGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP
138 2	ILB471	NYFNCVWDPLRMD CQYF M	139 5	ILB486	VMWQWEEGHWGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP
138 3	ILB473	DWQYYSSKTYGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP	139 6	ILB487	TQEMWFTGINGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP
138 4	ILB474	PDWITWQPAWGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA Y SP	139 7	ILB488	DNWWRIWDKQGGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP
138 5	ILB475	NMYHEHAAWGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP	139 8	ILB489	VTWFM YQDRAGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA Y SP
138 6	ILB476	EVNHVEDFPAGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP	139 9	ILB490	LPPPCYWTTWGKECQMF D
138 7	ILB477	WYTHSLQMWGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP	140 0	ILB491	VEPIPYTMMRGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP
138 8	ILB478	GPDVTQYVKFGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP	140 1	ILB492	RIVVMEQM QIGQAGQGS A TGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP
138 9	ILB479	QSPSASHIMGGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP	140 2	ILB493	MCNPM ESECHGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP
139 0	ILB480	GPVEESAPQYGGQAGQGS A TGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP			
139 1	ILB481	WIMSLSWPMAGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCA YSP			

140 3	ILB494	VYWYDVKWTWGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP	141 4	ILB506	MYVMKWQNWTGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP
140 4	ILB495	DCEQNQTYCVGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA YSP	141 5	ILB508	ISDVYQWHSYGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP
140 5	ILB497	WWPNYTWDPQGSATGG SSFNEDCMWDPLLMDCA YSP	141 6	ILB509	MVKLWEIYSWGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA YSP
140 6	ILB498	DGSPGYRAYHSQFGQAGQ GSATGGSGSTASSGSGSSF NEDCMWDPLLMDCA YSP	141 7	ILB511	QWGWSMWQEVGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP
140 7	ILB499	WPWFQEHEFWGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA YSP	141 8	ILB512	MWSAVFQPYQGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSPGGSFNEDCMWDPLLMDCA YSP
140 8	ILB500	WCRPTDLKLVKGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP	141 9	ILB513	AMHNVWMWRAMGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP
140 9	ILB501	DKSGGLVAIQGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP	142 0	ILB514	HEDKFIVWMWGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP
141 0	ILB502	DRWGWQKEPSGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA YSP	142 1	ILB516	QWWWTNSPWLGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP
141 1	ILB503	LAWKQSWIDTGQAGQGS ATGGSGSTASSGSGSSFNE DCMWDPLLMDCA YSP	142 2	ILB517	QHQTAFTEMVGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA YSP
141 2	ILB504	VMLEQMPMMRGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP	142 3	ILB518	QTMWTRWMHDGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP
141 3	ILB505	ATRMWPMSISGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP	142 4	ILB519	YAWHHHVLNTGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA YSP

142 5	ILB520	YCPFMPALCVGQAGQGS TGGSGSTASSGSGSFNED CMWDPLLMDCAISP	143 6	ILB533	IKPSSHWWQGGAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP
142 6	ILB522	RTYSTPYWGWGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAIS P	143 7	ILB534	YEEQQVDEFGGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCAISP
142 7	ILB523	EIFWWLLQWEGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP	143 8	ILB535	AWWQGQRPYNGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCAI SP
142 8	ILB524	QIDFKYMMWTGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP	143 9	ILB536	PPLWMSQMVPQGSATGG SSFNEDCMWDPLLMDCA YSP
142 9	ILB525	QMQLDDEFYGGAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP	144 0	ILB537	VEHLSHSYVLGGAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP
143 0	ILB526	PVQQEWMQWYGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCAI SP	144 1	ILB538	DCSPDVHDCGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP
143 1	ILB527	QAWKLMWFAWGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP	144 2	ILB539	TYLQLWYFIQQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAISP
143 2	ILB528	MPSTQINQWVGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAISP	144 3	ILB540	GRWWMVQWVEGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCAI SP
143 3	ILB529	TEKDPAQDWWGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP	144 4	ILB541	VMEGHQFAQFGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAIS P
143 4	ILB531	EYTNTSWKGHGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP	144 5	ILB542	WWSPSYAWVMGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCAI SP
143 5	ILB532	QMEVAHVVDLGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP	144 6	ILB543	MEMVSAAWQEGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAIS P

144 7	ILB544	YWWTIDYWPYQQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	146 0	ILB557	KWNQQWTIARGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P
144 8	ILB545	YPMYYYQDISGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS	146 1	ILB558	ECSCAKSRYANGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P
144 9	ILB546	IMWAGPIFPNGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS	146 2	ILB559	SCQFLEEYKDCRGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
145 0	ILB547	IMGMYEGFRTGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS	146 3	ILB560	VPSLIYHTYYGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
145 1	ILB548	IERAYHSTRWGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	146 4	ILB561	SIYISYRQNHGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMWD PLLMDCAYS
145 2	ILB549	ETELKKPAMQQGAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS	146 5	ILB562	TYTHTAWDRGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P
145 3	ILB550	QDWHYPWVYQGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCAYS P	146 6	ILB563	LLVEFFKHTYGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS
145 4	ILB551	PLQKWEHIVNGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS	146 7	ILB564	FQGHWHIKKQGQAGQGS ATGGSGSTASSGSGSFNE DCMWDPLLMDCAYS
145 5	ILB552	TDSWCHTLYWALQHCVA QE	146 8	ILB565	FHLPIHWHYQGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
145 6	ILB553	WQNPWPVRFWGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCAYS	146 9	ILB566	LIVLQPKNMVGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS
145 7	ILB554	APGVAMWMFIGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	147 0	ILB567	TYSWRDWGMYGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCAYS P
145 8	ILB555	QSNGAHAWVWGQAGQG SATGGSGSTASSFNEDCM WDPLLMDCAYS			
145 9	ILB556	PDSSCHTLYWQLHHCARR E			

147 1	ILB568	DGSHPIVVVTEWFGQAGQ GSFNEDCMWDPLLMDCA YSP	148 2	ILB581	VWTAFIQMNSGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP
147 2	ILB569	VYWQAMNQDYGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA Y SP	148 3	ILB582	QIQQFSFWVQGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP
147 3	ILB570	PDSWCHTLYWDLLYCVN QE	148 4	ILB583	LFIPYMAQIWGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP
147 4	ILB572	DCAMWFMFKDQGQAGQ GSATGGSSFNEDCMWDPL LMDCA YSP	148 5	ILB584	MTTMYHIIVLGQAGQGS A TGGSGSTASSFNEDCMWD PLLMDCA YSP
147 5	ILB573	NNMHPLWPISGQAGQGS A TGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP	148 6	ILB585	GCSMCHMMMVKWHRGQ AGQGSFNEDCMWDPLL MDCA YSP
147 6	ILB574	FWYSWNPQWDGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA Y SP	148 7	ILB586	EQHVDWYVWPQGSFNED CMWDPLLMDCA YSP
147 7	ILB576	EGYWRGPHWEGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA Y SP	148 8	ILB587	NQTQPKRPTDGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA YSP
147 8	ILB577	YRMKWDFMLHGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA Y SP	148 9	ILB588	ELGGRKSMLIGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA YSP
147 9	ILB578	WWWDQHMLENGQAGQG SATGGSGSTASSFNEDCM WDPLLMDCA YSP	149 0	ILB589	EAWRELRWNGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA Y SP
148 0	ILB579	PCHWAQQPCAGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA Y SP	149 1	ILB590	YCTDRVDICMGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCA YSP
148 1	ILB580	FFDFFSFSNSGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP	149 2	ILB591	LIVPAPLTWWGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA YSP
			149 3	ILB592	WVPDMWMHEWGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA Y SP
			149 4	ILB593	YQDSWITGMQGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP

149 5	ILB594	YEEHCRLFPADWICSLQ	150 7	ILB606	YYPQHIDHIMGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
149 6	ILB595	VCQDEVYMWCEGQAGQ GSATGGSSFNEDCMWDPL LMDCAYSP	150 8	ILB607	MPLDDQPFLEGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAISP
149 7	ILB596	ADSWCHTLYWNLRHCEIQ E	150 9	ILB608	HTEFQRLEWPQGSATGGS SFNEDCMWDPLLMDCAI SP
149 8	ILB597	HHQQSMYWLEGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	151 0	ILB609	IQWPSMMEIHGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAISP
149 9	ILB598	AEHTFALQYVGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAISP	151 1	ILB610	QTGWGPKYMWGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCAI SP
150 0	ILB599	YTTYNWKPWQGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	151 2	ILB611	QSHIHLEKWLQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAISP
150 1	ILB600	ACDTQHHGCMGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCAISP	151 3	ILB612	QCWIYPYDGLCNGQAGQ GSATGGSSFNEDCMWDPL LMDCAYSP
150 2	ILB601	EVVGVGWFLNGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAIS P	151 4	ILB613	TCTHLVKTVLIGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAIS P
150 3	ILB602	PESWCHTLYWNLQHCLSQ E	151 5	ILB614	PLYTVWKWSGGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCAISP
150 4	ILB603	IDNKYEGMVLGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAISP	151 6	ILB615	FNFERWEQKPQGSFNEDC MWDPLLMDCAISP
150 5	ILB604	HWMTYQFWIQGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	151 7	ILB616	YVLQQVEMQEGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAIS P
150 6	ILB605	TCELMQAWTHLGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	151 8	ILB617	SMTKYKALYHGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAIS P

1519	ILB618	QDNIA YQGWWGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	1530	ILB631	LQAWMWQVNQGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAYS
1520	ILB619	MDHIWQH GQLGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	1531	ILB632	QFPYESPPSIGQAGQGSFN EDCMWDPLLMDCAYS
1521	ILB620	SCFGDLQICWGQAGQGS TGGSGSTASSGSSFNED CMWDPLLMDCAYS	1532	ILB633	IYLSWDM PALGQAGQGS TGGSGSTASSFNEDCMWD PLLMDCAYS
1522	ILB621	HCKDMHWA IQFGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP	1533	ILB634	QYTEMVALVYQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCAYS
1523	ILB622	WLFVAEQSQYQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	1534	ILB635	PDSWCHTLYWHLQHCLS QE
1524	ILB623	ANSWCHTLYWDLMYCV WQE	1535	ILB636	PAKDPFVMRHGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
1525	ILB624	DGSGFY PNKWFHGGQAG QGSATGGSSFNEDCMWD PLLMDCAYS	1536	ILB637	WQVSSVQLPYQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
1526	ILB625	MVYRWVMQADGQAGQG SATGGSGSTASSGSSFN EDCMWDPLLMDCAYS	1537	ILB638	QQTQTYWGTWGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P
1527	ILB627	HPMEIKTMMKGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	1538	ILB639	DQLWRQNWMQGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP
1528	ILB629	LQAWMWQVNQGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	1539	ILB640	QYYNVYWQNQGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
1529	ILB630	GCNYFPTQWECYGQAGQ GSFNEDCMWDPLLMDCA YSP	1540	ILB641	QTYSNKPMGPQGSFNEDC MWDPLLMDCAYS

154 1	ILB642	EEEWSWYDRRGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	155 1	ILB653	MFYEQWWIHGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P
154 2	ILB643	AYYWKEWMKMGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPG	155 2	ILB654	PDWITWQPAWGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAYS
154 3	ILB644	AIAHLDVFPPQGSFNEDC MWDPLLMDCAYS	155 3	ILB655	WPFYEQYIHMGGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
154 4	ILB645	QYQSRQTFQIGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS QGSFNEDCMWDPLLMDCAYS	155 4	ILB656	RPYYQWHIWGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
154 5	ILB646	YWAWQQEFQWGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPGSYWAWQQEF QWGQAGQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAYS	155 5	ILB657	TGFFWSWSFGGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
154 6	ILB647	YYQGFQWQIGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	155 6	ILB659	SKMEQYPWNMGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAYS
154 7	ILB648	FFYQWSYGSQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	155 7	ILB660	YHWQQHQYHGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAYS
154 8	ILB649	YEEHCALFPTDWICTLH	155 8	ILB661	DWQVYYKTWIGQAGQGS ATGGSGSTASSGSGSSFN EDCMWDPLLMDCAYS SATGGSGSTASSGSGSSFN EDCMWDPLLMDCAYS
154 9	ILB650	WRWHAEDWYGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	155 9	ILB662	YRYTTYWWYSGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCAYS
155 0	ILB652	WRWFGYHHGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP			

156 0	ILB664	QCCMSQVSWYVGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAYSPO GSATGGSSFNEDCMWDPL LMDCAYSPO	156 7	ILB672	IWWGYSDHYGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
			156 8	ILB673	IVNFTWNFLSGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYSPO
156 1	ILB665	YYQGFPWFQIGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPGGGSYYQGFPWF QIGQAGQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAYSPO	156 9	ILB675	MQFSWTQHFFGQAGQGS ATGGSGSTASSGSGSSFN EDCMWDPLLMDCAYSPO GMQFSWTQHFFGQAGQGS ATGGSGSTASSGSGSSFN EDCMWDPLLMDCAYSPO
156 2	ILB666	QWSFHWWSHTGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	157 0	ILB676	LHANSIATNWGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
156 3	ILB667	WTFEWWIYTKGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	157 1	ILB677	PDSWCHTLYWQLHCERQ E
156 4	ILB669	ADRFVWNPYGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAYSPO	157 2	ILB678	QFPYESPPSIGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
156 5	ILB670	QRYMMQTMIGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAYSPO	157 3	ILB680	YYQGFPWFQIGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPGGGSYYQGFPWF QIGQAGQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAYSPO GGGSYYQGFPWFQIGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
156 6	ILB671	PWSKATQPGWGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCAYSPOGSATGG SGSTASSFNEDCMWDPLL MDCAYSPQGSATGGSGST ASSFNEDCMWDPLLMDCAYSPO	157 4	ILB681	YYQGFPWFQIGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPGGGSYYQGFPWF QIGQAGQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAYSPO

157 5	ILB739	GEAWCWDPIRMDVRVCS VFI	159 1	ILB758	RAFTCPWDPLIMDCAGAS
157 6	ILB740	GPYSCPWDPMKMECAYS P	159 2	ILB759	GDDWCAWDPIRMQCSYT K
157 7	ILB741	EYSSCNWDPLLMQCQRV V	159 3	ILB760	EIEQCWWDPMLMEGVCW PSI
157 8	ILB742	FHSTCFWDPLLMRCVSAP	159 4	ILB761	HGRSCAWDPLKMDCVWY H
157 9	ILB743	SVSPCIWDPLLMCGNYS	159 5	ILB762	RLGACVWDPLMMQCAWI S
158 0	ILB744	VGVDCPWDPLMMECAGR N	159 6	ILB763	LYPSCPWDPILMQCSALK
158 1	ILB745	VSAECYWDPLMMQCSTD M	159 7	ILB764	PTPLCHWDPLLMHCTASD
158 2	ILB747	FGDTCFWHPFNEDMCESK P	159 8	ILB765	TDSWCHTLYWQLHHCAIL E
158 3	ILB748	QWLHCFWDPLMMKCVTV S	159 9	ILB766	RWNVCAWDPLLMQCASA P
158 4	ILB749	TPHPCHWDPMIMYCMLE M	160 0	ILB767	MSVSCNWDPLLMTCRLPT
158 5	ILB750	HEEDCWWDPILMQCFNRT	160 1	ILB768	PGLRCPWDPLMMTCVAH P
158 6	ILB751	HTANCPWDPLMNCSEFQS	160 2	ILB769	QIAFCLWDPLMDCTVQT
158 7	ILB752	YTKHCQRLPTYKICNLFM	160 3	ILB770	SPQECPWDPIAMKCAFVR
158 8	ILB755	ADSWCHTLYWQLQHCLS QE	160 4	ILB771	TSHPCWWDPIMMSCWLE E
158 9	ILB756	HSRWCYWEPIRMIECM GDK	160 5	ILB772	VQLYCIWDPLMMDCGQR S
159 0	ILB757	PGVACFWDPMLMSCSYDE	160 6	ILB773	CRNSCHWDPLIMDCMQE M

1607	ILB774	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSIVQHQPS RMY	1619	ILB787	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSFVGESQYMQTK
1608	ILB775	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSICQATPYSPWCR	1620	ILB788	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSQPWRHNMQKI
1609	ILB776	HRAPCFSCCTACRQPCFSLT	1621	ILB789	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSQFPYESPPSI
1610	ILB778	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGSALRMCDSWVENR CLG	1622	ILB791	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGRGSSLGGVSPPIVSGRA SA
1611	ILB779	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSAQWQCHIN PTGMACVDMLQG	1623	ILB792	ANSWCHTLYWQLHHCEIL E
1612	ILB780	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSHPWHRN MQKI	1624	ILB793	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSIWQTEVIVPD
1613	ILB781	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSQFPYESPP SI	1625	ILB794	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSRVRLDHWQEV
1614	ILB782	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSVCPTQPANCQ	1626	ILB797	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGDGSIE HHGAWSAQ
1615	ILB783	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPCRFWPG RAFCH	1627	ILB798	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPVLGCRNV HNTQCRLWFQG
1616	ILB784	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGSEC ELDYHVMVWCK	1628	ILB799	GLHGCQYVQMFFHFCAPK T
1617	ILB785	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSFWMQQA QQHK	1629	ILB800	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSHW ERCVPHSDDPDYNSFDS
1618	ILB786	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSKCDWQP WFCP	1630	ILB801	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGSGWVFRCKNMPCA KAEH

163 1	ILB802	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPPHPSNSI WR	164 2	ILB814	PDSRCHTLYWALRYCAY QE
163 2	ILB803	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSRLS LHCPEHPCGSSWTQG	164 3	ILB815	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGSW HSYTAMYAD
163 3	ILB804	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSPDWITWQPAW	164 4	ILB816	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSGMVSHW KKVQ
163 4	ILB806	FQGHICALFPTDWICTLKS	164 5	ILB817	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GSQGMPCQYHAMQLCPPS R
163 5	ILB807	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGSVGLLCQDF AYGQTHCDVLQQG	164 6	ILB818	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSHQHNFQLRYT
163 6	ILB808	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGDGSNCYQEP HFTYCP	164 7	ILB819	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSLCDQWQ SARYCV
163 7	ILB809	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSECMSSW HGCT	164 8	ILB820	FNEDCMWDPLLMDCAYS P
163 8	ILB810	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GSDAWGCLDDFFMKVAG CKTLF	164 9	ILB821	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSYCHEDPR SLDCR
163 9	ILB811	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSQFLLCNGS EWCPANRQG	165 0	ILB822	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSHPWRHN MHKI
164 0	ILB812	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSFCMWPF IPPR	165 1	ILB823	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPLVDCLTY PEWVNCPRTIQG
164 1	ILB813	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSMGGEDDI WHQ	165 2	ILB824	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSDCNFAPK ETNCW

165 3	ILB825	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GSKTLFCGYDGYDMCDLS A	166 3	ILB836	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGSIC MEYPIIRPCT
165 4	ILB826	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSWNRHPPP SGQ	166 4	ILB837	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSPLCSWYV APMF
165 5	ILB827	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSMQYHPWQDMW	166 5	ILB838	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSADDCCVSH LPFIGYCGFVRQG
165 6	ILB828	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSSCNITDQ MGVCL	166 6	ILB840	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GSGEDQCKLFGSGLDTCIP YV
165 7	ILB829	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSWD DTCNAEVYQQGLMCDTR VQG	166 7	ILB842	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSPPCKAPE FDWCT
165 8	ILB831	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSARRGCVM LNECSSVSQG	166 8	ILB843	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSHECAVHY QHGCOPYASQG
165 9	ILB832	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSRMRSVCPH HVCWRGVPPQG	166 9	ILB844	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG NCSCFIKPVGPDCWAVS
166 0	ILB833	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGSPKSECVAPLEMIEC PSLW	167 0	ILB845	QAASAPASEPPGSLCLPDQ FRCGNGQCIPLDWVCDGV NDCPDDSDDEGCPPTCA PSQFQCGSGYCISQRWVC DGENDCEDGSDEANCAGS VPTCPSEDFR
166 1	ILB834	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSVFWCYSQ HGCALTSQG	167 1	ILB846	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSSEEQPTEW HVV
166 2	ILB835	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPRAWQFP VSS			

167 2	ILB847	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGSETFDCNTPWEHEC YGRF	168 3	ILB858	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGSKC WSFSGNRPCP
167 3	ILB848	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSETL PCQYWGQSWCSQSAQG	168 4	ILB860	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSPDWITWQ PAW
167 4	ILB849	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSPCTPWTEWQQCP	168 5	ILB861	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSYQP GCAQWWDMERGCFITQ
167 5	ILB850	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSHSLCQP WHLCPPAQQG	168 6	ILB862	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSSYWEHG WPWQ
167 6	ILB851	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSKCSIDVQQCM	168 7	ILB863	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSWPSPWK QMV
167 7	ILB852	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSQPWRHN MQKI	168 8	ILB864	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSDEFQFGSEMM
167 8	ILB853	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGSHH KNNGTIYQ	168 9	ILB865	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSINALGVA VQH
167 9	ILB854	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPAERMK MHMF	169 0	ILB866	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSQWQWKI HPAE
168 0	ILB855	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSREFTQNW SIY	169 1	ILB867	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSICERPLH TPWA
168 1	ILB856	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSAYTMWQYHKF	169 2	ILB868	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSPWAKNR HEAV
168 2	ILB857	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSYMGQIPA HNI	169 3	ILB869	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSQPWRHNMQKI

169 4	ILB870	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGSIRGLSCWPQDCGL EEL	170 5	ILB881	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGSIC NWEEVDPHCA
169 5	ILB871	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSNFGSYS TPH	170 6	ILB882	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGS PWLDPQ WDIW
169 6	ILB872	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGS HYLWQE KTYK	170 7	ILB883	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGSRNSWICMEWHCSD LTR
169 7	ILB873	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSDCGANHEHCS	170 8	ILB884	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGSW GYQQSWVQQ
169 8	ILB874	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSRVQIIVPEKW	170 9	ILB885	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSLTV SNCQEEICMQDEYQG
169 9	ILB875	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGS EHHWEH PTNF	171 0	ILB886	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSQCKAYM PQCA
170 0	ILB876	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSSAH DCTEESWCWMEVQG	171 1	ILB887	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSSWQRHDGHI
170 1	ILB877	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSYSF RCDVEPHQPGCFDLIQG	171 2	ILB888	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGS TR EMLVHPRH
170 2	ILB878	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGS LMYMWE PRTQ	171 3	ILB889	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSQQKERISPWP
170 3	ILB879	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSLEASCAQS DQCFRQSQG	171 4	ILB890	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSFNINNIYV GN
170 4	ILB880	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSLCFSNWDEMKCF	171 5	ILB891	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSVSSYNPW IYY

171 6	ILB892	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSMQTSCEFH EKYERHGCQQLSQG	172 6	ILB902	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSFFHWPTK AKE
171 7	ILB893	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSNCLIAEW ECE	172 7	ILB903	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGSQC EFEQEECW
171 8	ILB894	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSWEVPRSL WGQGQAGPGGGSG	172 8	ILB904	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSGVT GCSGFPTTGTCSEQEQG
171 9	ILB895	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GSMSLECESYGIGWCSLL H	172 9	ILB905	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGS LD YHDIPRHA
172 0	ILB896	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSHISTCKLIM GAYAHCQTPSQG	173 0	ILB906	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGS SG WEHSSIVF
172 1	ILB897	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSLQQGRRH HMR	173 1	ILB907	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSWWSPAY GWQN
172 2	ILB898	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSNIDFQCYPF KCGVLFSQG	173 2	ILB908	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSQCALKSF TVPCN
172 3	ILB899	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSGCSSTPF AWSCS			
172 4	ILB900	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSPCQNQPSYQVCT			
172 5	ILB901	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSLRQ SCYPIPESEKCSFSNQG			

Связывающие рИЛ-6 домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикации онный номер	Пептидная последовательность	175 9	ILC39	WCLITPWEVQCY
			176 0	ILC40	TTMVFQASLG
174 7	ILC19	GDWEVVDWCF	176 1	ILC41	LCFCYEYEVH
			176 2	ILC42	HWEFYEFYFI
174 8	ILC20	PCQWVIYHCF	176 3	ILC43	LCYWEVWFTWE
			176 4	ILC44	PCYLVMMWECEM
174 9	ILC21	WEIEWSWYWD	176 5	ILC46	GCDFYMNLC
			176 6	ILC50	WQEQWWYKQH
175 0	ILC23	FYMEFIWSP	176 7	ILC52	SELSCYWEMKWECSWVT
			176 8	ILC53	FCWSCEVFQMEICDELG
175 1	ILC24	WYWMLEWEWD	176 9	ILC55	HALHCANEERIFVQCLESS
			177 0	ILC56	VYLECNVYEWPEAWCVV MP
175 2	ILC25	PCEEAFAAYLE	177 1	ILC57	TQHLCAWDVRSQADMCI YWT
			177 2	ILC58	QVYVCYVLAQHEAICTS WA
175 3	ILC27	QCFAWEFVWHCD	177 3	ILC59	LTWVCTVMQHMNHMEC LLDL
			177 4	ILC60	MLLHCPAMWKCQSDL
175 4	ILC28	YTWDLYIYQA			
175 5	ILC31	MYTEWQMWWIGQAGQG GGSGGGGSFYDQWEVEL H			
175 6	ILC33	AEFDWMQYGYGQAGQG GGSGGGGSYEFNWKYQE W			
175 7	ILC34	YMQWKVEWWG			
175 8	ILC35	WEITWDWEYY			

177 5	ILC61	LTWDCYQVFEEWYDCTM SH	179 0	ILC86	SEFILCDLAMVFAECHGA A
177 6	ILC62	VWGGCWYHFTIQHCPT LS	179 1	ILC89	SELLLCAFDMVISECHGTT
177 7	ILC63	MTILCYEQREDMWDCWN VF	179 2	ILC90	DSFGCTWEVWGRECHPQ L
177 8	ILC64	LDCACHFEEHVRTIFCSIG H	179 3	ILC93	SEFIFCDLEMVFRECHGTT
177 9	ILC65	WLVCWVVEDMNMICRL YE	179 4	ILC95	SEFVYCMLDMVFRECHGT A
178 0	ILC66	LDFLCYENIHNNFDCFRV M	179 5	ILC96	SELILCALEMVFNECHGA V
178 1	ILC67	VASHCIQMPHWLLCQTLI	179 6	ILC97	SDLVLCEWDMVVRECHG VF
178 2	ILC70	WTVWCEWENEYGGWCD VSL	179 7	ILC99	SDLIWCELDLMVFRECHGA A
178 3	ILC71	LQCKCDEPYPSYYTCRVY F	179 8	ILC102	SSFVFCDLEMVFRECHGV F
178 4	ILC74	GPFMCMMDLHRDELLHC WASD	179 9	ILC103	SDLILCNLEMVFKECHGVI
178 5	ILC75	VAVDCFVWTPYEPWYCT VMS	180 0	ILC106	SSLILCDLEMVFKECHGVL
178 6	ILC77	MTDRCYTYEWQYTVCYG RN	180 1	ILC108	SEIVLCEWAMVLAECHGA A
178 7	ILC80	RDWRCYLMAHWVHVCG PFIGQAGQGPGWAGGSD MDLCQDWVYESKYCVPL A	180 2	ILC144	SRCDRVLGTHINL
178 8	ILC83	SRYVICDLDMVFRECHGA F	180 3	ILC164	SHEEWTCFPYLCTFWAE
178 9	ILC84	SALVLCELEMVFRECHGV L	180 4	ILC165	SEEEWTCFPYLC SIWLE
			180 5	ILC166	SQEEWTCFPYLC SYWLE

180 6	ILC167	SQEEWTCFPYLCSFWSE	182 2	ILC184	SDEEWTCFPSLCTQLLQ
180 7	ILC169	SHEEWTCFPYLCKYWLH	182 3	ILC185	SEEDWTCFPYLCRILVE
180 8	ILC170	SHEDWTCFPYLCKVLLH	182 4	ILC186	SHEEWTCFPYLCGKWAE
180 9	ILC171	SHEEWTCFPYLCENWLH	182 5	ILC187	SHEDWTCFPYLCSILLQ
181 0	ILC172	SEEEWTCFPYLCTDWVH	182 6	ILC189	SHEDWTCFPYLCRVLE
181 1	ILC173	SEEEWTCFPYLCTILLQ	182 7	ILC190	SDEEWTCFPYLCTFWLQ
181 2	ILC174	SDEEWTCFPYLCSVWVE	182 8	ILC191	SEEEWTCFPYLCRNWLD
181 3	ILC175	SEEEWTCFPYLCSYLLH	182 9	ILC192	SEEEWTCFPYLCGLWVE
181 4	ILC176	SHEDWTCFPYLCKYLLD	183 0	ILC193	SEEDWTCFPYLCRILLD
181 5	ILC177	SQEEWTCFPYLCREWVE	183 1	ILC194	SHEDWTCFPYLCRILSH
181 6	ILC178	SDEEWTCFPYLCSQWVE	183 2	ILC195	SEEEWTCFPYLCTNWLD
181 7	ILC179	SEEEWTCFPYLCREWAH	183 3	ILC196	SEEEWTCFPYLCSDWLE
181 8	ILC180	SEEEWTCFPYLCSYWLD	183 4	ILC197	SEEEWTCFPYLCTHWLH
181 9	ILC181	SEEEWTCFPYLCSQWLE	183 5	ILC198	SEEEWTCFPSLCNFWSQ
182 0	ILC182	SEEEWTCFPYLCTNWLH	183 6	ILC199	SQEEWTCFPYLCTYWLQ
182 1	ILC183	SHEDWTCFPYLCRILVE	183 7	ILC200	SHEEWTCFPYLCTYWSH

183 8	ILC201	SDEEWTCFPYLCSWAQ	185 4	ILC218	SHEEWTCFPYLCSLWAQ
183 9	ILC202	SDEEWTCFPYLCSYWVD	185 5	ILC219	SDEEWTCFPTLCTDWLQ
184 0	ILC203	SHEEWTCFPYLCRILLD	185 6	ILC220	SQEEWTCFPYLCSHWLD
184 1	ILC204	SQEEWTCFPYLCTDWLH	185 7	ILC221	SEAEWTCFPYLCSDWLH
184 2	ILC205	SEEEWTCFPYLCSFWLE	185 8	ILC222	SEEEWTCFPYLCGQWVE
184 3	ILC206	SHEDWTCFPYLCTLLQ	185 9	ILC223	SDEEWTCFPSLCSFWLE
184 4	ILC207	SHEDWTCFPYLCNILLQ	186 0	ILC224	SEEEWTCFPYLCTLWSQ
184 5	ILC208	SEEEWTCFPYLCSHWAE	186 1	ILC225	SDEEWTCFPTLCSLWSE
184 6	ILC209	SHEEWTCFPYLCKILLE	186 2	ILC226	SDEEWTCFPSLCSFWLD
184 7	ILC210	SQEEWTCFPYLCSYWLQ	186 3	ILC227	SQEEWTCFPYLCTDWVQ
184 8	ILC211	SEEEWTCFPYLCSIWLD	186 4	ILC228	SEEEWTCFPYLC SILVD
184 9	ILC212	SHEEWTCFPTLCTDWLQ	186 5	ILC229	SEEEWTCFPYLCSKLLH
185 0	ILC213	SEEEWTCFPSLCTIWLQ	186 6	ILC230	SEEEWTCFPYLCGKWLQ
185 1	ILC214	SHEEWTCFPYLCSDWLQ	186 7	ILC231	SEEEWTCFPYLCTQLLH
185 2	ILC215	SEEEWTCFPYLCSLWVD	186 8	ILC232	SDEDWTCFPYLCRILLE
185 3	ILC216	SHEEWTCFPYLCSVWAQ	186 9	ILC233	SQEEWTCFPSLCSDWVQ

187 0	ILC234	SDEEWTCFPYLCSFWAQ	188 6	ILC257	SHEEWTCFPYLCSYLLE
187 1	ILC236	SEEEWTCFPYLCRELLE	188 7	ILC258	SEEEWTCFPSLCKILLQ
187 2	ILC237	SEEEWTCFPSLCGVWAE	188 8	ILC259	SEEEWTCFPYLCSKWVE
187 3	ILC238	SHEEWTCFPYLCTVWAE	188 9	ILC260	SACEEAFAYLEDGLM
187 4	ILC239	SEEEWTCFPYLCTNLVE	189 0	ILC262	SEEEWTCFPSLCSNLVQ
187 5	ILC240	SQEEWTCFPYLCSKWVD	189 1	ILC263	SHEEWTCFPYLCSFWAE
187 6	ILC241	SQEEWTCFPYLCSDLWQ	189 2	ILC264	SHEEWTCFPSLCTLWSH
187 7	ILC242	SDEEWTCFPYLCSYWLQ	189 3	ILC265	SEEEWTCFPYLCSKWLD
187 8	ILC243	SDEEWTCVPSLCAKLADG QAGQAAAGGSHEEWTCF AYLCGLLAD	189 4	ILC269	SEEEWTCFPYLCTYWVD
187 9	ILC244	SHEEWTCFPYLCTYWLQ	189 5	ILC270	SDEEWTCFPYLCDYWLH
188 0	ILC247	SEEEWTCFPYLCSEWAQ	189 6	ILC274	SHEEWTCFPYLCSFWLE
188 1	ILC248	SEEEWTCFPYLCSQWLH	189 7	ILC275	SDEEWTCFPYLCTDWLH
188 2	ILC249	SDEEWTCFPYLCSEWLQ	189 8	ILC276	SHEEWTCFPYLCNLLSH
188 3	ILC250	SACEEAFAYLED SAV	189 9	ILC277	SQDEWTCFPSLCSDLSE
188 4	ILC253	SDEEWTCFPYLCEYWLQ	190 0	ILC280	SEEEWTCFPYLCSFWLQ
188 5	ILC254	SQEEWTCFPYL CRILVD	190 1	ILC281	SEEEWTCFPYLCSLWLE
190 2	ILC282	SHEEWTCFPYLC SYWLE			
190 3	ILC283	FMV HCTWYDVTID CVGPT			
190 4	ILC284	SDI SCSYIDGWYQ CLLHL			
190 5	ILC285	WGC LCQQQGHFME CEITW			
190 6	ILC286	ESL LCIQHDVWVD CYIVE			
190 7	ILC287	NSS FCYIHAIEWV CESS			
190 8	ILC288	DLL YCEWEMV VRE CHGTIGQ			
190 9	ILC292	QIV ECWTEMDWHHC VLF F			

Связывающие ИЛ-17а домены MRD

SE	Иденти	Пептидная	194	ILA16	IDPGCWLTPWSFQCPGYM
Q	фикации	последовательность	5		
ID:	онный		194	ILA19	LGLWCWMFPIDSFCYPAV
	номер		6		
			194	ILA23	LHLWCWMFPLDDACADF
			7		F
193	ILA1	LSLWCWHDQAEFCVESN	194	ILA24	LDLWCWFPNDDWCMTHL
2			8		
193	ILA2	SKYDCFWENHEWLYCAPR	194	ILA25	MVLDCYHIEELDEYWCDDW
3		M	9		YS
193	ILA3	FDLYCWVWPDMMECTAG	195	ILA26	LGLWCWMFPIDSFCYPAI
4		T	0		
193	ILA4	GTWDCWVEGEWVYCTP	195	ILA27	YDVWCFFFPDEIMCNETQ
5		WS	1		
193	ILA5	STEGCHQDWYDLCAFLA	195	ILA28	VEIDCEYDWMNEYLYCAP
6			2		RV
193	ILA6	LSLWCWMFPEHNACLSPV	195	ILA29	KCNFNPWKAACG
7			3		
193	ILA7	ESLWCWMFPNEQTCLVQ	195	ILA30	DWLHCEIKPPFYHCWNMT
8		H	4		
193	ILA8	VSYLCDEYQGLLYCMVQ	195	ILA31	LSLWCWINDVNCSEPV
9		R	5		
194	ILA9	LDLWCWFPNDTKCMRLT	195	ILA33	LSLWCFIDETSEQCSILS
0			6		
194	ILA10	LGLWCFVYPDDQMCIRS	195	ILA34	MDLSCWMTDPTLEWWFC
1		W	7		EYRP
194	ILA11	MGELCEFFGFHDCPMQI	195	ILA35	LNLWCWMFPAAAECEFD
2			8		Q
194	ILA12	SETLCWDGWDIWCQDPQ	195	ILA36	WCFGCVIPPFWYECMCPT
3			9		
194	ILA13	DWATCWFEFELWYCIPY	196	ILA37	LTLWCWIFPQDEICWTML
4		N	0		

196 1	ILA38	IFFDCTFSDWQLDCVELD	197 7	ILA58	QSPWCFMFPQEEHCNHYN
196 2	ILA39	LALWCWMFPMSECPPK H	197 8	ILA59	LSLWCWIFPTEETCKHGL
196 3	ILA40	GHIGCWGPEWYCHWYG	197 9	ILA61	HSAWCWFPEDNICLDRR
196 4	ILA43	VDEL CVFMFGQSDCRNLF	198 0	ILA62	LTMWCEEMIKDEWWCVP AI
196 5	ILA44	LSLWCWAFPSDTVCLARL	198 1	ILA63	NALWCWFPEASECGLME
196 6	ILA45	STWECWEVNNETYECAR LL	198 2	ILA64	YTYYCVETEYNMVCELD Y
196 7	ILA46	SNPWCHIAEYELWCWMG H	198 3	ILA65	IGWQCEYLPWDECQWQF
196 8	ILA47	TSWECHETGDDYFYCWH LK	198 4	ILA66	DDLFCWMFPSAYVCLPPV
196 9	ILA48	LDLVCWMPTEKACWSM R	198 5	ILA67	QDELCNFIFNDHCASAF
197 0	ILA50	LGLWCWMFPWEQVCSVR L	198 6	ILA68	LQELCHYLGFEECVGQQ
197 1	ILA51	TWYLCWESQWWDVYYC EEEG	198 7	ILA69	ASLWCWMYPNDISCFMES
197 2	ILA52	MSLWCWMFPWDNMCFK FS	198 8	ILA71	TADLCMFLWHQDCGRIF
197 3	ILA53	IRDDCQENWQSELVCFL G	198 9	ILA73	LSLWCWLHDQAEFCVESN
197 4	ILA55	LGLWCWMFPMDDPDCHRG Y	199 0	ILA74	WPLECYTDEE LYDIWCLMDL
197 5	ILA56	LAYECWVLEDLEYVICEQ GM			
197 6	ILA57	LFFICYETPEEYMYCLPKG			

Связывающие TL1A домены MRD

			200 6	TLA56	KFNECFVGYYDIWCNSSV
SE Q ID:	Иденти фикации онный номер	Пептидная последовательность	200 7	TLA58	GEDTCHWVHFIDDWYCL APM
			200 8	TLA62	EVTICQYTEDFTYYYCTRP N
199 3	TLA26	LLGDCFAGFDNIWCEFLD	200 9	TLA70	EVCWDSESESIQWCDME W
199 4	TLA29	KCNFNPWKAACG	201 0	TLA72	PFVVCYTQWQGEREFHNC WKLQ
199 5	TLA30	QTFWCYDDWHECSGKP	201 1	TLA77	QTVRVCFYDRCQDVKF
199 6	TLA34	LNHSCWWDEWEECPHN V	201 2	TLA81	QKAICWNTEHITYYYCSR PN
199 7	TLA37	KVEYCYDDWHQCKQVQ	201 3	TLA85	SSWDCMGGPIVWVCPEGR
199 8	TLA38	DDSMCAWWDEWHECEH HS	201 4	TLA88	RVEECSEYFRQCLANY
199 9	TLA39	EYMYCYDDWYDC	201 5	TLA89	DYDVCWDVLADRLYYCD EPI
200 0	TLA43	DNTDCYYQGYWVYCTDL N	201 6	TLA90	DSFGCTWEVWGRECHPQ L
200 1	TLA44	RSDVCWDMAAQHLFYCG EWI	201 7	TLA91	DYDVCWDLEVDRLYYCD DPL
200 2	TLA46	RYDVCWDQKLQELYCS YYH	201 8	TLA92	DYDVCWDVQLDRLYYCD VPM
200 3	TLA47	LSSVCWNNSAEKLEYCGP LE	201 9	TLA93	DYDVCWDIHADRLYYCN APF
200 4	TLA49	HITICDYQEYFYMCTILY	202 0	TLA94	DIDVCWDIAADRLFYCHA PM
200 5	TLA50	DMAGCHWDVPYINFDCR ASM	202 1	TLA95	DHDVCWDIDRLYYCEG PW

202 2	TLA97	MYDVCWDLQVDKLYFCG DDL	203 8	TLA11 5	YTDVCWDIDVDRLYYCD ADV
202 3	TLA98	DWDVCWDVEVDRLFYCE APT	203 9	TLA11 7	EDAVCWDPAHEKLVWCN RFE
202 4	TLA99	DFDVCWDLDLDRLYYCD APM	204 0	TLA11 8	DYDVCWDVNADRLFYCD DAI
202 5	TLA10 1	DYDVCWDVHLDRLYYCN SPI	204 1	TLA11 9	DYDVCWDVDEDRLYYCN VPI
202 6	TLA10 2	DYDVCWDIDEDRLYYCD AFL	204 2	TLA12 0	DYDVCWDLDFDRLYYCH PAE
202 7	TLA10 3	DYDVCWDLVDRLYYCD GPT	204 3	TLA12 1	RWDVCWDYHADKLFFCN EDL
202 8	TLA10 4	DYDVCWDIYDDRLYYCD TPV	204 4	TLA12 2	DYDVCWDVLDRLYYCE APM
202 9	TLA10 5	ALDVCWDIEEDRLYYCDA PL	204 5	TLA12 3	EYEVWCWDVHVHRLVFCN VPV
203 0	TLA10 6	DYDVCWDVYHDLRFYCE DHL	204 6	TLA12 5	KTDVCWDLKLYFCDI DT
203 1	TLA10 7	DYDVCWDFEVDRLYYCD GPG	204 7	TLA12 6	RDDVCWDYNTDKLYFCG SNI
203 2	TLA10 8	EYDVCWDIDVDRLYYCAS PM	204 8	TLA12 7	DYDVCWDYDVDRLYYCD FPV
203 3	TLA10 9	DYDVCWDIELDRLYYCD ASI	204 9	TLA12 8	NYDVCWDVSEDRLYYCD APR
203 4	TLA11 0	DYDVCWDVELDRLYYCE APL	205 0	TLA12 9	DWDVCWDLLEDRLYYCE DPM
203 5	TLA11 1	YYDVCWDLDLILYYCD APG	205 1	TLA13 0	EYDHCWDVSRKLELCW EHN
203 6	TLA11 3	DYEVWCWLQMDRLYYCE ASI	205 2	TLA13 1	EYAVCWDEAQQKLVWCK DLN
203 7	TLA11 4	IFDVCWDVDEDRLYYCQA ET	205 3	TLA13 3	DYDVCWDIYEDRLFYCE MHV

205 4	TLA13 4	KLDVCWDLVDRLYFCD APM	207 0	TLA29 0	KFHVCWDSHQDKLVYCS LKV
205 5	TLA13 5	DYDVCWDLVDRLYYCD VPM	207 1	TLA29 1	LEFVCWDDDRGKLVFCA GHM
205 6	TLA13 6	DYDVCWDLHDLRLYYCH AYC	207 2	TLA29 3	GHEVCWDMHNEKLVFCR THI
205 7	TLA13 8	DYDVCWDIDLRLYYCD AGS	207 3	TLA29 4	NKAVCWNYHQEKLEFCN STM
205 8	TLA13 9	DYDVCWDIDADRLYYCH AAM	207 4	TLA29 5	TYAVCWDFNAHKLVFCD DMM
205 9	TLA14 0	KYDVCWDDYLDILYYCN GPL	207 5	TLA29 6	EYALCWVEAQEKLVWCK DLI
206 0	TLA14 1	HLDVCWDIDLHLYYCDL GM	207 6	TLA29 7	DYAVCWVEDQGKLVWC NGVN
206 1	TLA14 2	MYDVCWDLEVDRLYYCE APM	207 7	TLA29 8	DYAVCWDEAQEKLVWCN GLS
206 2	TLA14 3	EYDVCWDIDSDRLYLCVG LM	207 8	TLA29 9	EYAVCWVHSQEKLDWCT GSK
206 3	TLA14 4	DYDVCWDVHADRLYYCK EDI	207 9	TLA30 0	EYAVCWNEARGKLEYCT ALK
206 4	TLA14 5	DYDVCWDLNLDRLYYCD SPM	208 0	TLA30 1	DYAVCWDEHKQKLEFCR TFI
206 5	TLA14 6	EYDVCWDVQNDRLYYCD APE	208 1	TLA30 2	EYTVCWDAKNEKLYFCH YPL
206 6	TLA14 7	DYDVCWDYDVLRLYYCN FQS	208 2	TLA30 3	SLDVCWDHHLDKLTFCNL NM
206 7	TLA14 8	DYDVCWDYKIDHLYYCD GPV	208 3	TLA30 4	QLDVCWDDHYQKLYFCY ARI
206 8	TLA14 9	GVDVCWDYEEEDRLFYCES PL	208 4	TLA30 6	SYDVCWDSRLTKLVYCN ASN
206 9	TLA15 0	DYDVCWDLNDRLFYCD SAM	208 5	TLA30 7	QYAVCWDEALEKLLWCK ELH

208 6	TLA30 8	DYAVCWSEAQDKLEWCI GHN	210 2	TLA32 6	LDLVCWDENSQKLLFCTK PG
208 7	TLA30 9	EYAVCWVEEHEKLLWCE GLN	210 3	TLA32 7	QSSVCWDYNSQKLRFC MSL
208 8	TLA31 0	EYSVCWVVDQEKLWCR SLH	210 4	TLA32 8	RLDVCWDEHASKLVFCRS YM
208 9	TLA31 1	EYAVCWSEAQGKLEWCQ GSN	210 5	TLA32 9	ISAVCWDTQLQKLVFCNA SM
209 0	TLA31 2	DYAVCWVDVGLKLVWCK GSL	210 6	TLA33 0	LDTVCWDIHSGRLVFCAS LL
209 1	TLA31 3	PPAVCWDDNNSKLVFCHS FI	210 7	TLA33 1	EYALCWDDPLEKLQWCK DIS
209 2	TLA31 4	SSNVCWDDVLETIRFCHT HM	210 8	TLA33 2	EYALCWNEVQEKLWVCK ELN
209 3	TLA31 5	LDQVCWDLYANKLIFCAD VI	210 9	TLA33 3	EYAVCWDEVQDKLVWCN GVN
209 4	TLA31 6	NLDVCWDNNRGKLMFCR NHD	211 0	TLA33 4	EYAVCWDEVQERLEWCT RPN
209 5	TLA31 7	SYAVCWNALEEKLVFCTD EI	211 1	TLA33 5	EFAVCWDDGQEKLWVCN RLH
209 6	TLA31 8	PNEVCWDSHKEKLVFCTH QM	211 2	TLA33 6	EYALCWNEVHEQLEFCIG RN
209 7	TLA31 9	EYALCWLEAQEKLDWCT ELN	211 3	TLA33 7	RSEVCWDTHLFKLVYCQD WF
209 8	TLA32 1	ENAVCWDESQEKLWVCN GIR	211 4	TLA33 8	QSYVCWDEHQSRLRFCSE TI
209 9	TLA32 3	ESDVCWNENVEQLEFCNG RF	211 5	TLA33 9	PDTVCWDDHLGKLMFCSS IM
210 0	TLA32 4	EYAVCWDEAPEKLIWCEG LN	211 6	TLA34 0	RNHVCWDEYTEKLRFCD DGA
210 1	TLA32 5	RWAVCWDTDRQKLLFCG PML	211 7	TLA34 1	HSDVCWDDHMDKLAFC WHMI

211 8	TLA34 2	FTAVCW DYHSNKLQFCST LM	213 4	TLA36 1	LDVVCWDTQQQKLRFC THM
211 9	TLA34 3	DYAVCWDDVRGKLVWC KGLK	213 5	TLA36 2	RSDVCWDAHLDKLIFCAG VM
212 0	TLA34 4	EYDLCWDEIRQKLEWCQ GLT	213 6	TLA36 4	DHAVCWNEFQEKLWCT GLN
212 1	TLA34 5	EYAVCWDAENEKLEWCE GLN	213 7	TLA36 6	QNDVCWDYHRGKLAFCE ALI
212 2	TLA34 6	KHFVCWDELNEKLVWCK GLI	213 8	TLA36 7	DTDVCWDHVGKLYFCT KSL
212 3	TLA34 7	EYAVCW NEDHAKLEWCQ ELN	213 9	TLA36 8	TSDVCWNYHYSKLQFCQ QSM
212 4	TLA34 9	LSMVCWDQHQRVLFCIN RM	214 0	TLA36 9	LQDVCWDLYYQKLYFCH QPM
212 5	TLA35 0	AQYVCWDDKEQKLKFC DQM	214 1	TLA37 0	STDVCWDRDHDKLMFCM SVR
212 6	TLA35 1	RYAVCWDESTEKLVYCQ NQM	214 2	TLA37 1	DYAVCWDEAQKLGWCI GMN
212 7	TLA35 2	NEFVCWDEYKNKLVFCVP TL	214 3	TLA37 2	EYAVCWDDAQERLEWCK EPL
212 8	TLA35 3	RFFVCWDHDNSKLVFCSQ NM	214 4	TLA37 3	EYAVCWDESLEKLEWCT GLY
212 9	TLA35 6	RYAVCWDEAQEKLWCG RVN	214 5	TLA37 4	EYAVCWDEAQRLIWCK GLY
213 0	TLA35 7	AFDVCWVEALEKLEWCL GHN	214 6	TLA37 5	EYALCW DQDKEILHWCV EFY
213 1	TLA35 8	SSDVCWEAHSEKLYFCDP AR	214 7	TLA37 6	DNEVCWDGHDVDRVLVCD STM
213 2	TLA35 9	KLYVCWDKYKEKLVFCQ ALM	214 8	TLA37 7	NHDVCWDFHVDRLVYCD TPI
213 3	TLA36 0	KSEVCWDYDMNKL MFCF YDM	214 9	TLA37 8	DYAVCWDAHMDHLVYC DAIA

215 0	TLA37 9	DYEVWCDDYADRLVYCD LSL	216 6	TLA39 7	DYEVWCVDHVERLVYCE DLI
215 1	TLA38 0	SYEVCWDVHLDRLVYCN SVM	216 7	TLA39 8	DYAVCWVDYADRLIYCE VPM
215 2	TLA38 1	HYAVCWDFHLDRLVYCD RPS	216 8	TLA39 9	DYEVWCDFDIDRLVYCNP PM
215 3	TLA38 2	DYEVWCVDVIRGRLVYCET PM	216 9	TLA40 2	DYEVWCVDVHLDRLVYCD GPL
215 4	TLA38 3	AYEVCWDVNLDRVLVYCE ALM	217 0	TLA40 3	DYSVCWDFYFDRLVYCN ALF
215 5	TLA38 4	GYEVCWDLKWDRLVFCD API	217 1	TLA40 4	DYEVWCVDVHVGRLIYCN ALI
215 6	TLA38 5	ALEVCWDFDVLHVLVYCA AAL	217 2	TLA40 5	SYDVCWDDVVDRLVYCE ATL
215 7	TLA38 6	EFEVCWDVHLDRLVYCH ATM	217 3	TLA40 6	DYEVWCVDVEVDRLVYCV GHK
215 8	TLA38 8	QYDVCWDIYSDRLVYCD AHL	217 4	TLA40 7	PYEVCWDFHLDRLVFCD DK
215 9	TLA38 9	DYEVWCWDLYLGRLYYCN API	217 5	TLA40 8	DYEVWCDFLLDRLVYCD API
216 0	TLA39 0	EYEVCWDVNVDRVLVYCN MPN	217 6	TLA40 9	DWEVCWDVHLDRLVFCE TLI
216 1	TLA39 1	DYEVWCVDVHFDRLVYCD TPL	217 7	TLA41 0	DYEVWCDFDFDRLVFCEA VM
216 2	TLA39 3	DYEVWCWSDDLRLVYCQ ALI	217 8	TLA41 1	DYDVCWDVNADRLVYCN AIL
216 3	TLA39 4	DDAVCWDDYHLDRLVFCE TPM	217 9	TLA41 2	NHDVCWEFHLDRLVYCD GPS
216 4	TLA39 5	DYDVCWDIHLDRVLVYCD GPL	218 0	TLA41 3	DYEVWCVDVQLEHLVYCE API
216 5	TLA39 6	DYEVWCWDVQLDRVLVYCD GAM	218 1	TLA41 5	DDQVCWDVKIDRLVYCE ALM

218 2	TLA41 6	HSDVCWDFDIDRLVFCDT LI	219 8	TLA43 3	HYDVCWDDQVDRLVYCH APL
218 3	TLA41 8	DYEVCWDIHLDRLVYCN PM	219 9	TLA43 4	EYDVCWDFDIDRLVYCV LS
218 4	TLA41 9	DYDVCWDEDVDRLVYCE PPI	220 0	TLA43 5	YYEVCWDLNLDRLVYCD VNK
218 5	TLA42 0	DYEVCWDFDLDRLVYCD SDV	220 1	TLA43 6	NYQVCWDFDLDRLVYCG AHK
218 6	TLA42 1	DYEVCWDDHLDRLVYCD APG	220 2	TLA43 7	DYEVCWDVYFGRLVYCD VLM
218 7	TLA42 2	DYDVCWDFDLDRLVYCS GPL	220 3	TLA43 8	EYVVCWDTEVDHLVYCD AAM
218 8	TLA42 3	DYEVCWDDHVDRLVYCD RTL	220 4	TLA43 9	YSDVCWDFYDRLVYCD ASI
218 9	TLA42 4	DYEVCWDPHVDRLVYCD APA	220 5	TLA44 0	DYEVCWDVDVDRLVYCD GPK
219 0	TLA42 5	HYEVCWDAHFDRLVYCE API	220 6	TLA44 1	DYAVCWDDHVEHLVYCD ASW
219 1	TLA42 6	DLEVCWDFDVLDRLVYCE API	220 7	TLA44 2	DYDVCWDFDFERLVFCNS SM
219 2	TLA42 7	GFEVCWDVLDRLVFCA ASE	220 8	TLA44 3	DYAVCWDDHFDRLVYCD WTT
219 3	TLA42 8	SYAVCWDFDLRLVYCEI PL	220 9	TLA44 4	DYDVCWDEHLDRLVYCN GLG
219 4	TLA42 9	DHEVCWDFELDRLVYCY KAK	221 0	TLA44 5	EYEVCWDVNVDRLVWCY ATM
219 5	TLA43 0	KYEVCWDEHIDRLVYCD VPM	221 1	TLA44 6	DYEVCWDVHAERLVYCD API
219 6	TLA43 1	YSDVCWDFDLDRLVYCE AHL	221 2	TLA44 7	DHEVCWDEHVDRLVYCY KAI
219 7	TLA43 2	DYEVCWDVNLDRLVYCA GPM	221 3	TLA44 8	DYDVCWDDYLDRLVYCE ARI

221 4	TLA45 0	HYDVCWDYHLDRLVYCN RHM
221 5	TLA45 1	DYEVCWDIHL DRLVYCD APW
221 6	TLA45 2	EYDVCWDVDL DRLVYCA TTY
221 7	TLA45 3	EYEVCWDFQVDRLVYCM AIT
221 8	TLA45 4	DYEVCWDIIVDRLVYCEA PP
221 9	TLA45 5	YYEVCWDL YL DRLVFCN ADL
222 0	TLA45 7	DYEVCWDFREDRLVYCD SIM
222 1	TLA45 8	DYAVCWDFHLNRLVYCD VPV
222 2	TLA45 9	EYDVCWDFQLDRLVYCD SQM
222 3	TLA46 0	DYAVCWDFEDRLVYCV GPL
222 4	TLA46 1	SERDCNIQKMRKVPCLVM L
222 5	TLA46 4	SDWACPMYMHEIECSVR W
222 6	TLA46 8	VPEVCQWEFVKCLWNA
222 7	TLA47 5	AAWQCLDPEWWVCVML N
222 8	TLA48 5	LVSSCPYGTSAVCNGMW
222 9	TLA48 9	GTVYCQPYMSVMECAFR A

223 0	TLA49 1	EDFLCYPAPWVLSAAGT
223 1	TLA49 3	VSGGCPSYMNQWECVFR W
223 2	TLA49 5	HVELCFDKMRYCIMEL
223 3	TLA51 9	TLLACQLKFIKCLNNW
223 4	TLA52 0	LVFLCPGYRAQHHCVLLS
223 5	TLA52 1	QDRVCWDFHLQKLQFCEL SM

Связывающие рЭФР домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикаци онный номер	Пептидная последовательность	226	EGA81	LLILCFHHQLEWKWTCLT
			5		ME
225	EGA43	WEFQCHFYEDESMFECTLS P	226	EGA85	HSGQCTWEVWGRECWY
			6		QN
225	EGA46	WLSMCPHFYHQKCRFW K	226	EGA86	QMDTCTWEVWGRDCIQ
			7		WA
225	EGA47	SRILCMVNPYWMACWLE T	226	EGA87	DAWGCTWQVWGRECS
			8		PG
225	EGA49	GMRRCIWEYVMKHQAC APIF	226	EGA88	HEVGCTWEVWGRDCEQI
			9		R
225	EGA50	HLCGCYLELPGVLLCYCF S	227	EGA90	DPWGCTWEVWGRECP
			0		NL
225	EGA51	ARLLCVVYPGFVACVVQ Q	227	EGA91	DLHGCTWEIWGRECQIR
			1		H
225	EGA54	VAFRCIIDEMYMTWE VE	227	EGA92	DPGGCTWEVWGRECQNS
			2		M
225	EGA57	GLHGCQYVQMFFHFCAP KT	227	EGA93	DMFGCTWEVWGRECPSP
			3		Q
226	EGA58	LLMFCHSMWWPNCYS CV	227	EGA95	DAWGCTWEIWGRECAR
			4		Y
226	EGA67	LSLRCTSEMWWGCYLVA	227	EGA96	TSDSCTWEIWGRECYMQ
			5		R
226	EGA69	EKMYCTYTHFFHMCYLP P	227	EGA98	DQYGCTWEVWGRECVG
			6		GA
226	EGA70	LGVICIHWNKYCKTFV	227	EGA99	DQYGCIWEQWGRECFVN
			7		T
226	EGA78	SVLGCDDVGIFYQCLEFL	227	EGA100	DNDGCTWEVWGRECHQ
			8		FK
226	EGA78	SVLGCDDVGIFYQCLEFL	227	EGA101	EYDGCTWEVWGRECHES
			9		S
226	EGA78	SVLGCDDVGIFYQCLEFL	228	EGA102	GAGNCTWEIWGRDCPQD
			0		V

228 1	EGA103	TVDRCTWEVWGRECSQN G	229 7	EGA119	DDFGCTWEIWGRECYWE F
228 2	EGA104	LADNCTWEVWGRECPIT E	229 8	EGA120	SSSFCTWEVWGRDCPQD Q
228 3	EGA105	DNYGCTWEVWGRDCSK SP	229 9	EGA121	AADRCTWEVWGRDCPQ TH
228 4	EGA106	DAHGCHWEVWGRECTR TA	230 0	EGA122	LVDLCTWEVWGRECWY SD
228 5	EGA107	SSDLCTWEIWGRECYSG Y	230 1	EGA124	DSYGCTWEVWGRECPM DT
228 6	EGA108	DDFGCYWKGWGRECHL PL	230 2	EGA125	DNWGCTWEVWGRDCHY GT
228 7	EGA109	DWWGCTWEVWGRECLQ LE	230 3	EGA126	PDFGCTWEVWGRECYGV N
228 8	EGA110	DAHGCTWEVWGRECGQ WA	230 4	EGA128	QSTQCTWEVWGRECHQ MR
228 9	EGA111	DAFGCTWEVWGRECRH VV	230 5	EGA129	LPPGCTWEVWGRDCLHP R
229 0	EGA112	DAWGCTWEIWGRDCAA DN	230 6	EGA130	GEVDCTWEVWGRECYN GW
229 1	EGA113	DASGCTWEVWGREMM WH	230 7	EGA131	LTVGCTWEVWGRECWQ QP
229 2	EGA114	DPWACTWEVWGRECNH VG	230 8	EGA132	DDDGTWEVWGRECLP A
229 3	EGA115	ASDNCTWEVWGRECQL WG	230 9	EGA133	SLLSCTWEVWGRDCSAF Y
229 4	EGA116	DMYGCTWEIWGRECHIN D	231 0	EGA134	KDKECTWEVWGRECWQ DR
229 5	EGA117	DSWGCRWEVWGRECGS DI	231 1	EGA135	DQGGCTWQVWGRDCRS NP
229 6	EGA118	NPDGCTWEVWGRECYSN R	231 2	EGA136	DHYGCTWEVWGRECWT VG

231 3	EGA137	DAFGCTWAVWGRECRH DQ	232 9	EGA154	DAYGCTWELWGRDCHQ IV
231 4	EGA138	YGDSTWEVWGREMM GR	233 0	EGA155	DYWGCTWEVWGRECTT NP
231 5	EGA139	TADPCTWEVWGRECHM RP	233 1	EGA156	DIWNCTWEVWGRECYL NQ
231 6	EGA140	QDWGCTWEVWGRDCQQ YT	233 2	EGA157	SWSLCTWEVWGRDCYW QK
231 7	EGA141	DSWGCTWEIWGRECWG TE	233 3	EGA158	DIWGCTWEVWGRECLN YY
231 8	EGA142	SVDFCTWEVWGRECYW YP	233 4	EGA159	TNGFCTWEVWGRECWY GS
231 9	EGA143	AGDGCTWEVWGRECLQ ES	233 5	EGA160	DLYGCTWEIWGRECHIT G
232 0	EGA144	MWPNCTWEVWGRDCA WYH	233 6	EGA161	DENGCTWEVWGRECYIQ R
232 1	EGA145	DEYGCSWEVWGRECHTT L	233 7	EGA162	DSFGCTWEVWGRECHPQ L
232 2	EGA146	DQWGCTWEVWGRECAF NS	233 8	EGA163	NHDFCTWEVWGRECW NA
232 3	EGA147	SSDPCTWEVWGRECPQG P	233 9	EGA164	DEHGCTWEVWGRECHRP G
232 4	EGA148	LVLGCWWEVWGRECGS TA	234 0	EGA165	DHHGCTWEVWGRDCYW AI
232 5	EGA149	KADHCTWEIWGRECAQY T	234 1	EGA166	WQDNCWWEVWGRECL GDR
232 6	EGA150	DDWGCSWEVWGRECPQIP K	234 2	EGA167	PTDTCTWEVWGRECYWI R
232 7	EGA151	PKYGCTWEIWGRECWHS T	234 3	EGA168	YQDPCTWEIWGRDCHQG M
232 8	EGA153	SNLGCTWELWGRDCSLY Y	234 4	EGA169	DRWGCTWEIWGRECHQ DN

234 5	EGA170	DLWGCTWEVWGRECFV VN	236 1	EGA187	LPAPCYWTTWGKECLLF G
234 6	EGA171	GLDGCTWEVWGRECYQ GS	236 2	EGA188	LPAPCYWTTWGKECFMP Q
234 7	EGA173	LPIPCYWTTWGKECFMP R	236 3	EGA189	LPAPCYWTTWGKECFILS
234 8	EGA174	LPDPCYWTTWGKECFMF R	236 4	EGA190	LPTPCYWTTWGKECYVY G
234 9	EGA175	LADPCYWTTWGKECVIP R	236 5	EGA192	LPAPCYWTTWGKECYML P
235 0	EGA176	LTVPCYWTTWGKECFLP R	236 6	EGA193	LTPPCYWTTWGKECFMF P
235 1	EGA177	LPAPCYWTTWGKECFILR	236 7	EGA194	LSTQCYWTTWGKECYLF P
235 2	EGA178	LPAPCYWTTWGKECHMP R	236 8	EGA195	LPAPCYWTTWGKECLML R
235 3	EGA179	LPAPCFWTTWGKECFLFR	236 9	EGA196	LPYPCYWTTWGKECFMH R
235 4	EGA180	LAAPCYWTTWGKECYM PR	237 0	EGA197	LAAPCYWTTWGKECLMI R
235 5	EGA181	PTSPCYWTTWGKECYLL R	237 1	EGA198	LTAPCYWTTWGKECYLF H
235 6	EGA182	ITPPCYWTSWGKECHLFR	237 2	EGA199	LPAPCYWTTWGKECVLG V
235 7	EGA183	LPAPCYWTTWGKECFML R	237 3	EGA200	LPFPCYWTVWGKECFMP R
235 8	EGA184	LTEPCYWTTWGKECFLP V	237 4	EGA202	LSPPCYWTIWGKECHML Q
235 9	EGA185	LPAGCYWTTWGKECFM HN	237 5	EGA203	PNDPCYWTTWGRECLLG R
236 0	EGA186	ITSPCYWTTWGKECFIFP	237 6	EGA204	LPPPCYWTTWGKECQMF D

237 7	EGA205	LTDPCYWTIWGRECLLP	239 3	EGA222	FTDPCYWTVWGRECLLP R
237 8	EGA206	FNEPCYWTTWGKECYLP R	239 4	EGA223	LTAPCYWTTWGKECLIL R
237 9	EGA207	LPAPCYWTNWGKECFM MR	239 5	EGA224	VTDPCYWTTWGRECLML P
238 0	EGA208	FPDPCYWTTWGRECLLP R	239 6	EGA225	LTSPCYWTTWGKECFML N
238 1	EGA209	VTSGCYWTTWGKECFLP R	239 7	EGA226	LPVPCYWTTWGKECLMF P
238 2	EGA210	STAACYWTTWGKECYM PR	239 8	EGA227	TADPCYWTTWGRECLMP R
238 3	EGA211	LPGGCYWTTWGKECFMP R	239 9	EGA228	LTAPCYWTIWGKECYLL P
238 4	EGA212	IITPCYWTTWGKECYLIP	240 0	EGA229	LAPPCYWTTWGKECLLR
238 5	EGA213	TADPCYWTTWGRECVMS R	240 1	EGA230	LPSPCYWTTWGKECFMP R
238 6	EGA215	LADQCYWTTWGKECYL GL	240 2	EGA231	VDGICYWTTWGKECLM PR
238 7	EGA216	LTDPCYWTVWGRECFLL R	240 3	EGA233	LPDDCYWTTWGKECYLQ R
238 8	EGA217	IDAACYWTTWGKECLLP R	240 4	EGA235	DIDPCWWAPWGRECLM VR
238 9	EGA218	LTAPCYWTTWGKECFLL R	240 5	EGA236	TPDPCWWATWGRECILD R
239 0	EGA219	LPVPCYWTTWGKECLML R	240 6	EGA237	LPAPCFWTTWGKECFLL R
239 1	EGA220	VTDSCYWTTWGRECYLP H	240 7	EGA238	DNDPCYWTVWGRECLM PL
239 2	EGA221	LPAGCYWTTWGKECYM FA	240 8	EGA239	LTAPCYWTTWGKECLL P

240 9	EGA240	LTVPCYWTTWGKECYLL S	242 5	EGA258	FSDPCYWTTWGRECFLWI P
241 0	EGA241	LIAPCYWTTWGKECYML P	242 6	EGA259	LSDPCYWTTWGRECFL P
241 1	EGA242	LPEPCYWTTWGRECFLPR	242 7	EGA260	FKDPCYWTTWGRECYLE P
241 2	EGA243	LTPCYWTIWGKECFLPI	242 8	EGA261	FPDPCYWTTWGRECILPL
241 3	EGA244	LPEGCYWTTWGKECFML R	242 9	EGA262	LTDPCHWTIWGRECFLPP
241 4	EGA245	LPAPCYWTTWGKECFILL	243 0	EGA263	YDDHCCYLTIWGRECFLP P
241 5	EGA247	LKAPCYWTTWGKECYLL P	243 1	EGA265	FSDPCIWTTWGRECFLWV H
241 6	EGA248	LKDPCYWTTWGRECLML P	243 2	EGA266	TRDTCYWTTWGRECFLP P
241 7	EGA249	VRPGCYWTTWGKECFMP G	243 3	EGA268	HRAPCFSCCTACRQPCFSL T
241 8	EGA250	PSDPCYWTTWGRECYMIP	243 4	EGA269	FDDPCYWTTWGRECLML P
241 9	EGA251	LPAPCYWTTWGKECHM SR	243 5	EGA270	HNDPCVWTTWGRECFL P
242 0	EGA252	LSDPCYWTTWGKECFLIL	243 6	EGA271	LGDSFCWTTWGRECFLH P
242 1	EGA254	LTDHCYWTTWGRECLLP R	243 7	EGA272	FSDPCYWTTWGRECLLIP
242 2	EGA255	VTDPCYWTTWGRECLLL R	243 8	EGA273	CTGPCYWTTWGRECCLS YP
242 3	EGA256	LPAGCYWTTWGKECHLH L	243 9	EGA274	ASDPCYWTTWGRECFL P
242 4	EGA257	LPAPCFWTTWGKECYMF T	244 0	EGA276	LSDPCYWTTWGRECILLQ

244 1	EGA277	LTDPCHWTTWGRECFLLP	245 7	EGA293	FDDYCCYWATWGRECY LIP
244 2	EGA278	STDLCYWTTWGRECYLPP	245 8	EGA294	YSGPCYWTTWGRECLH P
244 3	EGA279	FSDPCSWTTWGRECFLLP	245 9	EGA296	SSDACYWTTWGRECFLL P
244 4	EGA280	WRDPCYWATWGRECYL VP	246 0	EGA297	FSDHCWWSTWGRECYLL P
244 5	EGA281	LGDPCYWTTWGRECFWL P	246 1	EGA298	TSDPCYWTTWGRECLLN R
244 6	EGA282	FRDPCYWTTWGRECFLL P	246 2	EGA299	TSDPCYWTTWGRECLLL P
244 7	EGA283	LIDPCYWTTWGRECFLLP	246 3	EGA300	CSGPCYWTTWGRECCFS LP
244 8	EGA284	LSDNCYWTTWGRECFLP P	246 4	EGA302	SIDSCFWTTWGRECFLLP
244 9	EGA285	FTDPCYWTTWGRECFLL P	246 5	EGA303	FSDPCYWTTWGRECFLV Q
245 0	EGA286	YNDPCYWTTWGRECLLL P	246 6	EGA304	FSDPCYWTTWGRECFLLP
245 1	EGA287	SSDPCYWTTWGRECFLLP	246 7	EGA305	CRDPCYWTTWGRECYLI P
245 2	EGA288	FGDPCYWTTWGRECYLL RP	246 8	EGA307	FGDPCYWATWGRECFLLP
245 3	EGA289	LTDPCWTTWGRECLLL P	246 9	EGA308	FADPCYWTTWGRECLLH P
245 4	EGA290	SSDPCYWTTWGRECLLL P	247 0	EGA309	FSEPCYWTTWGRECYLLP
245 5	EGA291	LSDPCYWTTWGRECLLL P	247 1	EGA310	DDDDCYWTTWGRECFLL P
245 6	EGA292	FRDPCYWTTWGRECFLP P	247 2	EGA311	FSDPCTWTTWGRECFLS

247 3	EGA313	FGDPCSWTIWGRECFLP	248 9	EGA331	VIDTCYWTTWGRECYLL PP
247 4	EGA314	SKDPCYWTTWGRECFLL P	249 0	EGA333	ITDPCYWTTWGRECFLRP
247 5	EGA315	CTGPCYWTTWGRECCFF VP	249 1	EGA335	PSDPCHWTTWGRECFLQ S
247 6	EGA316	FSDPCYWTTWGRECYLR P	249 2	EGA336	FTDPCYWTTWGRECYLD P
247 7	EGA318	YSDPCYWTTWGRECFML P	249 3	EGA337	FSDHCWTTWGRECLL P
247 8	EGA319	FGDPCYWTTWGRECFLL P	249 4	EGA338	FSDPCIWTTWGRECFWV P
247 9	EGA321	LTDPCYWTTWGRECFLL P	249 5	EGA339	FDDHCCYWTTWGRECFR LP
248 0	EGA322	YIDTCYWTTWGRECFLLP	249 6	EGA340	FTDPCYWTTWGRECYLD T
248 1	EGA323	FSDPCFWTTWGRECFWV H	249 7	EGA341	SIDPCYWTTWGRECFLLP
248 2	EGA324	FSDHATGQHGVESAFCF	249 8	EGA342	FADPCYWTTWGRECFLLP
248 3	EGA325	FNDPCIWTTWGRECFLLP	249 9	EGA344	FSDPCYWTTWKGECFLL H
248 4	EGA326	VSDPCYWTTWGRECFLLP	250 0	EGA346	AFWQCVYTPMHAMCFS HK
248 5	EGA327	ISDPCYWTTWGRECFLLP	250 1	EGA347	MTIHWCQPWGCLLLFG
248 6	EGA328	FSDPCYWTTWGRECFWV P	250 2	EGA350	LYLSCMTGWWGEIVCVS AS
248 7	EGA329	SRDPCHWTTWGRECLL P	250 3	EGA351	KGLDCVHWPGMHWCW RSD
248 8	EGA330	FSEPCYWTTWGRECFLLP	250 4	EGA352	FSDPCYWTTWGRECFLLP

250 5	EGA354	FLDPCFWTIWGRECYLLP	252 1	EGA383	PDSGCHTLYWNLQHCAS LE
250 6	EGA355	FTDPCHWTTWGRECIWL P	252 2	EGA384	ADSWCHTLYWQLYYCES LE
250 7	EGA356	WRAYCHHSPWDFECFQV W	252 3	EGA386	PESWCHTLYWSLQDCVS SE
250 8	EGA358	VGDPCSWTTWGRECLF D	252 4	EGA387	PDSWCHTLYWQLHHCLS SE
250 9	EGA359	FSDPCVWTTWGRECLL P	252 5	EGA388	ADSWCHTLYWQLLHCVT QE
251 0	EGA362	WSPRCFAWIVCLDLS	252 6	EGA389	ADSWCHTLYWSLLECES RE
251 1	EGA370	YKWVCMWTPFGHQCVS AA	252 7	EGA390	PDSWCHTLFWDLQHCVS GE
251 2	EGA374	LGDPCYWTTWGRECVLL P	252 8	EGA391	PDSLCHTLYWSLRHCEIE E
251 3	EGA375	KKVFCYYLPFQQYCVTV S	252 9	EGA392	PDSLCHTLYWQLQHCAF WE
251 4	EGA376	FVTWCYAWPDSSACYGL H	253 0	EGA393	ADSWCHTLYWQLYYCE VWE
251 5	EGA377	FSDPCYWTTWGRECFMP P	253 1	EGA394	AESWCHTLYWSLHHCVY SE
251 6	EGA378	YSDPCYWTTWGRECLL P	253 2	EGA395	TDSWCHTLYWNLHCAS YE
251 7	EGA379	WVFTCSFQFEWECVQLH	253 3	EGA396	PDSWCHTLYWQLLHCAT LE
251 8	EGA380	PDSWCHTLYWQLLHCEM SE	253 4	EGA397	PDSWCHTLYWLLHECES RE
251 9	EGA381	VDSWCHTLYWQLHYCA SQE	253 5	EGA398	PDSWCHTLYWSLQFCESS E
252 0	EGA382	ADSWCHTLYWSLLHCAS SE	253 6	EGA399	PDSWCHTLYWQLHHCEI LE

253 7	EGA400	PDSWCHTLYWKLHHCLS ME	255 3	EGA417	PDSYCHTLYWSLIHCARS E
253 8	EGA401	VDSWCHTLYWQLLHCA MSE	255 4	EGA418	TDSWCHTLYWELQYCL MQE
253 9	EGA402	AESWCHTLYWQLVHCTS LE	255 5	EGA419	TDSWCHTLYWQLHHCAI LE
254 0	EGA403	PDSWCHTLYWDLHCE SE	255 6	EGA420	PDSWCHTLYWQLYHCVS LE
254 1	EGA404	ADSWCHTLWWQLHHCL FEE	255 7	EGA421	ADSWCHTLYWQLLHCV NQE
254 2	EGA405	TDSWCHTLYWLLHDCTS RE	255 8	EGA422	PDSWCHTLYWSLLHCAR QE
254 3	EGA407	ADSWCHTLYWQLLHCV AQE	255 9	EGA423	ADSWCHTLYWALQHCA RSE
254 4	EGA408	PDSSCHTLYWLLEHCLSV E	256 0	EGA424	ADSWCHTLYWSLLHCAS ED
254 5	EGA409	PDSWCHTLYWQLHYCTI LE	256 1	EGA425	ADSWCHTLYWDLHCA NLE
254 6	EGA410	PDSWCHTLYWQLLHCEIS E	256 2	EGA426	ADSWCHTLYWQLLHCE SE
254 7	EGA411	PDSWCHTLYWQLLHCAA SE	256 3	EGA427	PDSWCHTLYWDLHCPA GE
254 8	EGA412	PDSWCHTLYWQLHHCVS WE	256 4	EGA428	ADSWCHTLYWQLHHCTS LE
254 9	EGA413	TDSWCHTLYWALQHCVS TE	256 5	EGA429	ADSWCHTLYWSLQHCAS SE
255 0	EGA414	PDSWCHTLYWQLLHCTT QE	256 6	EGA430	PDSWCHTLYWQLYHCE MSE
255 1	EGA415	ADSWCHTLYWQLLHCIS LE	256 7	EGA431	PDSWCHTLYWDLMHCH HEE
255 2	EGA416	ADSWCHTLYWQLQHCLS QE	256 8	EGA432	PDSWCHTLYWQLYYCAT SE

256 9	EGA434	ADSWCHTLYWQLLHCAS GE	258 5	EGA450	PDSWCHTLYWQLLDCAT RE
257 0	EGA435	ADSWCHTLYWQLYHCA YWE	258 6	EGA451	ADSWCHTLYWNLRHCEI QE
257 1	EGA436	TDSWCHTLYWSLAHCAF LE	258 7	EGA452	PNSWCHTLYWDLLHCVS RE
257 2	EGA437	ADSWCHTLYWQLLHCET LE	258 8	EGA453	ADSWCHTLYWQLHHCAI SE
257 3	EGA438	ADSWCHTLYWQLHHCV SLE	258 9	EGA454	ADSWCHTLYWSLLHCES FD
257 4	EGA439	ADSWCHTLYWDLLHCES LE	259 0	EGA455	ADSWCHTLYWQLQHCV SWE
257 5	EGA440	ADSWCHTLYWQLLHCEF SE	259 1	EGA456	ADSWCHTLYWQLQHCIS YE
257 6	EGA441	TDSWCHTLYWNLVHCAS QD	259 2	EGA457	PDSWCHTLYWSLQHCAI YE
257 7	EGA442	PDSWCHTLYWDLLYCVN QE	259 3	EGA458	PDSWCHTLYWQLLDCTS SE
257 8	EGA443	PDSWCHTLYWNLHHCLS ME	259 4	EGA459	PDSWCHTLYWHLQHCLS QE
257 9	EGA444	ADSWCHTLYWALHHCSI QE	259 5	EGA460	AESWCHTLYWSLYHCAS EE
258 0	EGA445	TDSWCHTLYWALQHCV AQE	259 6	EGA461	PDSWCHTLYWQLQHCVS WE
258 1	EGA446	PDSRCHTLYWALRYCAY QE	259 7	EGA462	ADSWCHTLYWQLLHCVS QE
258 2	EGA447	ADSWCHTLYWNLLYCAI RE	259 8	EGA463	ADSWCHTLYWQLQYCV MQE
258 3	EGA448	VDSFCHTLYWQLIHCP IE	259 9	EGA465	ADSWCHTLYWQLLHCES LE
258 4	EGA449	ADSWCHTLYWNLLHCR ALE	260 0	EGA468	ADSWCHTLYWQLHHCV LEE

260	EGA469	PDSWCHTLYWSLHHCLIS	261	EGA486	PDSWCHTLYWDLHWCV
1		E	7		SLE
260	EGA470	PDSWCHTLYWQLIHCE	261	EGA487	ADSWCHTLYWSLLHCAI
2		QE	8		GE
260	EGA471	PDSWCHTLYWNLQHCE	261	EGA489	ADSWCHTLYWQLHHCL
3		ME	9		WLE
260	EGA472	ADSWCHTLYWQLKHCE	262	EGA490	ADSWCHTLYWSLAHCLS
4		TE	0		GE
260	EGA473	ADSWCHTLYWNLLYCA	262	EGA491	AESWCHTLYWDLHYCV
5		NQE	1		YHE
260	EGA474	PDSWCHTLYWSLQHCLN	262	EGA492	SDSWCHTLYWSLQHCVI
6		ME	2		SE
260	EGA475	PDSWCHTLYWSLYHCTIS	262	EGA493	ADSWCHTLYWNLLHCEY
7		D	3		RE
260	EGA476	ADSWCHTLWWQLLHCE	262	EGA494	ADSWCHTLYWQLLHCAS
8		SGE	4		EE
260	EGA477	SDSWCHTLYWSLRHCES	262	EGA495	PESWCHTLYWQMIFCESF
9		LE	5		E
261	EGA478	ADSWCHTLYWDLQHCL	262	EGA496	ANSWCHTLYWQLHHCEI
0		RWE	6		LE
261	EGA479	PDSWCHTLYWQLLYCES	262	EGA497	PDSWCHTLYWALHHCAS
1		WE	7		SE
261	EGA480	ANSWCHTLFWDLHHCLS	262	EGA498	PDSSCHTLYWQLHHCAR
2		LE	8		RE
261	EGA481	ADSWCHTLYWQLYHCTS	262	EGA499	ADSWCHTLYWDLQHCLI
3		LE	9		LE
261	EGA482	PDSWCHTLYWQLRHCEI	263	EGA500	ADSWCHTLFWNLKHCLI
4		SE	0		QE
261	EGA484	PDSGCHTLYWSLQHCTF	263	EGA502	ANSWCHTLYWDLMYCV
5		WE	1		WQE
261	EGA485	ADSWCHTLYWQLYHCE	263	EGA503	ADSWCHTLYWQLHHCV
6		VLE	2		TLE

263 3	EGA504	PDSWCHTLYWALHHCVS SE	264 9	EGA526	LPEGCYWAIWGKECFLPP
263 4	EGA505	GGSGCHGYLWQLLHCET WEGQAGQAAAGGSTDS WCHTLYWQLYHCASSE	265 0	EGA527	LPDGCWWAQWGRECLL LP
263 5	EGA506	PESWCHTLYWNLQHCLS GE	265 1	EGA528	DPDGCHWEVWGRECILL P
263 6	EGA507	PDSWCHTLYWQLIHCESL E	265 2	EGA529	LPEGCWWATWGRECLLP P
263 7	EGA509	PDSWCHTLYWVLLDCAR HE	265 3	EGA530	LPDGCWWSLWGRECFLP P
263 8	EGA510	PDSWCHTMYWSLIHCMN ME	265 4	EGA531	LLDVCWWSTWGRECLL QP
263 9	EGA511	AASWCQALYWHQFCCA SWE	265 5	EGA532	LPEGCWWAHWGRECVM VP
264 0	EGA514	ADSWCHTLFWQLQHCV WQF	265 6	EGA533	LPDDCYWAQWGRECHM LP
264 1	EGA515	TDSWCHTLYWSSLHCES LG	265 7	EGA534	LPEGCYWAVWGRECILP R
264 2	EGA517	PDSWCHTLYWQLYHCLS LE	265 8	EGA535	VPEGCWWSPWGRECLLP P
264 3	EGA519	SPDSCWWAIWGKECILLP	265 9	EGA536	LPSGCWWAVWGKECLL LP
264 4	EGA520	LSSGCYWAVWGRECLLI P	266 0	EGA537	MPEGCWWSLWGRECML LP
264 5	EGA521	LADGCWWAAWGRECLL PP	266 1	EGA538	LPEGCWWATWGKECLLL P
264 6	EGA522	LPGGCWWSAWGRECILL P	266 2	EGA539	LPEGCYWAIWGKECYLQ A
264 7	EGA523	LPEGCWWAVWGRECQL QP	266 3	EGA540	LPEGCWWATWGRECFL P
264 8	EGA524	LPEGCWWSTWGRECLLL P	266 4	EGA541	PPDGCWWAVWGRECLL LP

266 5	EGA542	LPESCWWSPWGRECLLP P	268 1	EGA560	LSADCWWSPWGRECILK P
266 6	EGA543	LSEGCWWAVWGKECILP P	268 2	EGA561	PSQGCWWSVWGRECFLP P
266 7	EGA544	LSEGCWWAVWGRECLL QP	268 3	EGA562	FPEECWWATWGRECFLP R
266 8	EGA545	LPVGCWWSVWGRECLLP P	268 4	EGA563	FPEGCWWATWGKECLLR P
266 9	EGA546	VPAGCWWAPWGRECILS P	268 5	EGA564	LPDGCWWALWGKECFL MH
267 0	EGA547	LPSACNWSPWSWQCFWL P	268 6	EGA565	LPEGCYWAQWGKECFLV P
267 1	EGA548	LPEGCWWAVWGKECVL SP	268 7	EGA566	LADSCYWTIWGRECLLP
267 2	EGA550	LPEGCWWSSWGKECFLH P	268 8	EGA567	FPADCWWSTWGRECFLQ P
267 3	EGA551	LPDGCWWSPWGRECILL P	268 9	EGA568	LPEGCYWAVWGRECYL VP
267 4	EGA552	LPDGCWWAVWGRECILP P	269 0	EGA569	LPEGCWWAVWGRECLL LP
267 5	EGA553	LPEGCWWATWGKECVL LP	269 1	EGA570	DPEGCFWAVWGRECLLQ P
267 6	EGA555	LPDGCWWSAWGKECFL P	269 2	EGA571	FADGCWWEVWGRECLL LP
267 7	EGA556	LPEGCWWSVWGKECLL P	269 3	EGA572	DPEGCWWAVWGRECLL RP
267 8	EGA557	LPEGCWWAHWGRECLL QP	269 4	EGA573	VSEGCWWAIWGRECILL P
267 9	EGA558	FPERCWWAMWGKECYL LP	269 5	EGA574	LPEGCWWSPWGKECLM TP
268 0	EGA559	LPEGCWWTWVGKECYL LP	269 6	EGA575	LPDGCWWALWGKECILR P

269 7	EGA576	LPDGCWWSQWGRECILV P	271 3	EGA592	LPDDCWWAPWGRECFLR P
269 8	EGA577	LPQDCWWAIWGRECFML P	271 4	EGA594	DSDGCVWAVWGRECFFL P
269 9	EGA578	LPDVCWWAVWGRECLL MP	271 5	EGA595	LRDGCWWAIWGRKCLLL P
270 0	EGA579	LPEGCWWAKWGKECVL PS	271 6	EGA596	VDEGCWWAVWGRECVL PE
270 1	EGA580	LPEGCYWTIWGRECFLLP	271 7	EGA597	HTDGCWWAQWGRECLL VP
270 2	EGA581	LPESCWWAVWGRECLLS P	271 8	EGA598	LPEGCWWAPWGKECLLL P
270 3	EGA582	SPDGCWWSQWGRECIML P	271 9	EGA599	LPDGCWWASWGRECFLI P
270 4	EGA583	KPESCWWANWGRECLLL P	272 0	EGA600	LPEGCWWAVWGRECILL S
270 5	EGA584	LSEGCWWATWGKECLLL P	272 1	EGA601	LPDACWWSVWGKECILE P
270 6	EGA585	VAGGCWWATWGRECLL PP	272 2	EGA602	DPHGCWWSPWGRECVL LD
270 7	EGA586	SAEGCWWAVWGRECLL LP	272 3	EGA603	LPQGCYWAVWGRECLLP L
270 8	EGA587	LPEGCYWAIWGRECLLP R	272 4	EGA604	LDAPCYWTVWGKECFLF S
270 9	EGA588	LPEGCFWAVWGKECFLL P	272 5	EGA605	DHYGCVWTQWGRECFP MY
271 0	EGA589	LTEGCWWAQWGRECILL P	272 6	EGA606	LPEGCYWAVWGKECFLL P
271 1	EGA590	LPKGCFWTTWGKECLLL P	272 7	EGA607	LHEGCWWAVWGKECFL LP
271 2	EGA591	LPEGCWWTVWGRECLLL P	272 8	EGA608	LPEGCWWSKWGRECILV P

272 9	EGA609	LPQGCWWANWGRECFL LP	274 5	EGA628	LPEGCWWSSWGRECFL P
273 0	EGA610	LPEGCWWATWGRECILL P	274 6	EGA629	LPEGCYWATWGKECLLQ P
273 1	EGA611	ISDGCWWAIWGRECILL P	274 7	EGA630	LPQGCWWATWGRECILL RP
273 2	EGA612	TPDGCYWAVWGRECFLR P	274 8	EGA631	LPDGCWWAVWGRECILL LP
273 3	EGA613	LPDGCWWAIWGRECILL P	274 9	EGA632	VSEGCWWAIWGRECFLQ P
273 4	EGA614	FADGCWWAVWGRECFL EP	275 0	EGA633	VADGCVWVWGRECILL LP
273 5	EGA615	LPEGCWWAVWGKECFM LP	275 1	EGA634	VPEACWWALWGRECILL P
273 6	EGA616	LPEGCWWSTWGKECVLL P	275 2	EGA635	LPQGCYWTWVGRECILL P
273 7	EGA617	LPDGCWWSLWGKECHL LQ	275 3	EGA636	QPEYCWWATWGRECILL VP
273 8	EGA618	LPEGCWWAHWGKECQL RP	275 4	EGA637	LPEGCFWAIWGSECLLLP
273 9	EGA619	DPEGCWWATWGRECILL LP	275 5	EGA638	LPEACWWSTWGRECILL P
274 0	EGA620	LPDGCWWAHWGRECILL PP	275 6	EGA639	VPEGCWWAVWGVQCQL LP
274 1	EGA621	LPDGCWWAKWGKECILL WP	275 7	EGA640	LPESCCWTDWGHECFLPP
274 2	EGA622	LPDGCWWSVWGKECILL P	275 8	EGA641	FPEDCWWSVWGRECILL P
274 3	EGA624	RSEGCWWATWGRECFL HP	275 9	EGA642	LSGGCWWAVWGRECILL LP
274 4	EGA627	LPEVCWWATWGHECILL P	276 0	EGA643	LPDGCWWSQWGRECILL P

276 1	EGA644	MPEGCWWAAWGRECIL LP	277 7	EGA662	LADGCYWAIWGRECILL P
276 2	EGA645	LPEGCYWAVWGRECILL P	277 8	EGA663	LPEGCFWTVWGKECILL P
276 3	EGA646	LPDGCYWAIWGRECILPN	277 9	EGA664	LPEGCYWTTWGRECILL P
276 4	EGA647	LPEGCWWAIWGRECILL P	278 0	EGA665	LPDGCWWSTWGRECILL P
276 5	EGA648	LPEGCWWATWGRECILL P	278 1	EGA666	MPDNCWWALWGKECFL MP
276 6	EGA650	LPEGCYWTTWGKECLLR P	278 2	EGA667	LPEGCWWAVWGKECLL LP
276 7	EGA651	LPDGCYWAVWGKECYQI R	278 3	EGA668	DPYGCWWTQWGRECHL LP
276 8	EGA652	LPEGCWWSSWGKECFL P	278 4	EGA669	LPEGCYWALWGKECLLP P
276 9	EGA654	LPEGCWWAHWGKECLL GP	278 5	EGA670	GPEDCWWSTWGRECIL AP
277 0	EGA655	IPDGCWWTVWGRECFLH P	278 6	EGA671	LPEGCIWTTWGKECFLQF
277 1	EGA656	LPEGCWWSIWGRECILLP	278 7	EGA672	LPAGCWWSAWGRECILL P
277 2	EGA657	LPEGCHWTMWGKECFLP P	278 8	EGA674	LNEQCWWAVWGHECLL LP
277 3	EGA658	LPEGCWWATWGRECILP P	278 9	EGA675	IPDDCWWAVWGRECILL N
277 4	EGA659	LPEGCWWAPWGKECILP H	279 0	EGA676	LPEGCWWSQWGRECILP P
277 5	EGA660	LPEGCWWSNWGRECFLM RQ	279 1	EGA677	LPEGCFWTIWGQECFLLP
277 6	EGA661	LPSGCWWAIWGRECILLP P	279 2	EGA678	LPDGCWWSQWGKECILL P

279 3	EGA679	LPEGCWWSTWGRECILL P	280 9	EGA698	LPSGCWWSTWGRECILL P
279 4	EGA680	LPDGCWWSIWGRECLLA P	281 0	EGA699	LPDGCYWAVWGRECLLL P
279 5	EGA681	VPDGCWWSPWGRECLLP P	281 1	EGA700	LPEACWWATWGRECILL P
279 6	EGA682	VPESCWWAVWGRECLLL P	281 2	EGA701	LPEGCCWTVWGLECFLC P
279 7	EGA683	LPDGCWWAMWGRECIL EP	281 3	EGA702	MPEGCYWAQWGKECLL VP
279 8	EGA684	LPEGCYWTIWGKECFLLP	281 4	EGA703	LPEGCLWMVWVGKECFV P
279 9	EGA685	LPDNCVWMVWGRECLL VS	281 5	EGA704	LPEGCHWAVWVGKECQL QP
280 0	EGA686	LTEGCWWATWGRECFL P	281 6	EGA705	LPEGCWWAPWGRECILP P
280 1	EGA687	LPKGCFTVWVGKDCYLL P	281 7	EGA706	LPEGCHWEIWGKECFLLP
280 2	EGA688	LPEGCFWAKWGKECYLT Q	281 8	EGA707	LPKGCYWATWGRECILLV P
280 3	EGA689	LPDGCWWAVWGRECLM LP	281 9	EGA708	LPEGCYWAVWVGKECLLR P
280 4	EGA693	DSYGCFWTIWGRECLLLP	282 0	EGA710	IGDACYWTVWGRECLLL P
280 5	EGA694	LSDGCWWAVWGRECLIQ K	282 1	EGA711	LPDGCVTVWGRECFGF P
280 6	EGA695	HPEGCWWAVWVGKECLL PP	282 2	EGA712	SPDGCYWALWGRECLLA P
280 7	EGA696	LPEGCWWAIWGRECLM QP	282 3	EGA713	LPQGCWWSVWVGKECILR P
280 8	EGA697	SLEGCWWSPWVGKECFP P	282 4	EGA714	LPKGCWWAVWVGKECLM QS

282 5	EGA715	LPEGCWWAVWGRECLM LH	284 1	EGA733	YAEHCSLFPSDWICSLMT
282 6	EGA716	LPEGCYWTTWGKECFL P	284 2	EGA734	YAEHCSQFPCDWICTLLT
282 7	EGA717	YAEHCSMFNDWICTLV T	284 3	EGA735	YAEHCCQFPSDWICTLMS
282 8	EGA718	YAEHCWQFPTDWICTLM P	284 4	EGA736	YAEHCRLFPCDWICTLMT
282 9	EGA719	YVEHCWQFPTDWICTLK T	284 5	EGA737	YAEHCWLFPTDWICTLLP
283 0	EGA720	YVDHCWHFPADWICGLS T	284 6	EGA738	YAEHCWMFPSDWICSLP T
283 1	EGA721	YEEHCRLFADWICSLQ	284 7	EGA739	YADHCEMFNDWICTLR T
283 2	EGA722	YLEHCRHFPTDWICSLP	284 8	EGA740	YAEHCRMFPDWICTLIP
283 3	EGA723	YLEHCRQFPGDWICTLE	284 9	EGA741	YAEHCRLFPTDWICTLTT
283 4	EGA724	YAEHCRMFPDWICSLIT	285 0	EGA742	YAEHCSQFPTDWICTLIT
283 5	EGA725	YVEHCCKFPTDWICTLNS	285 1	EGA743	YEEHCWLFNDWICSLM T
283 6	EGA726	YAEHCWLFPTDWICGLR A	285 2	EGA744	YAEHCQLFPSDWICSLET
283 7	EGA727	YAEHCRLFPTDWICTLLT	285 3	EGA746	YAEHCAQFPTDWICSLIS
283 8	EGA728	YEEHCWLFPTDWICTLLT	285 4	EGA747	YAQHCYQFPSDWICSLP
283 9	EGA731	YAEHCWQFPTDWICSLSS	285 5	EGA748	YAEHCRHFWTDWICSLK T
284 0	EGA732	YAAHCWQFPTDWICTLL P	285 6	EGA749	YGEHCRSFPTDWICTLLP

285			287		
7	EGA750	YSTHCRLFPTDWICTLEG	3	EGA768	YAEHCRQFPSDWICTLLS
285			287		
8	EGA751	YAEHCWHFPTDWICSLLP	4	EGA769	YAAHCSLFPTDWICTLMP
285			287		YAEHCWLFPKDWICTLD
9	EGA752	YFEHCRQFPTDWICTLMP	5	EGA770	M
286			287		
0	EGA753	YAEHCRLFPTDWICTIKS	6	EGA773	YAEHCLQFPADWICTLRT
286			287		
1	EGA755	YVEHCWQFPSDWICTLLP	7	EGA774	YAGHCALFPSDWICSLLP
286			287		
2	EGA757	YAEHCWRFPGDWICSLIT	8	EGA775	YAEHCSYFPTDWICTLRT
286			287		
3	EGA758	YAEHCRLFPTDWICSLRE	9	EGA776	YLDHCRLFPTDWICSLLP
286			288		
4	EGA759	YAEHCSMFPTDWICTLVT	0	EGA777	YVEHCRLFPCDWICSLMI
286			288		
5	EGA760	YLQHCLLFPTDWICTLLP	1	EGA779	YAEHCFQFPHDWICSLMT
286			288		
6	EGA761	YAEHCTLFPTDWICTLLP	2	EGA780	YQEHCWRFPPNDWICSLLP
286		YAEHCWMFPTDWICSLR	288		
7	EGA762	S	3	EGA781	YAEHCRLFPGDWICTLST
286			288		
8	EGA763	YAEHCWLFPKDWICTLIT	4	EGA782	YAEHCSMFPSDWICSLMT
286		YEEHCWQFPGDWICSLR	288		YAEHCWHFPTDWICTLR
9	EGA764	G	5	EGA783	S
287			288		YAEHCGLFPGDWICTLK
0	EGA765	YAEHCRIFPTDWICTLST	6	EGA784	N
287			288		YAEHCNMFPTDWICTLM
1	EGA766	YAEHCWQFPSDWICSLIE	7	EGA785	E
287			288		
2	EGA767	YAEHCShFWTDWICTLST	8	EGA786	YAEHCSFFPADWICTLIP

288		YAEHCWMFPTDWICSLN	290		LPGGCWWAVWGRECQL
9	EGA788	R	5	EGA808	LP
289			290		HPDDCWWALWGRECLL
0	EGA789	YPEHCWQFPDWDICTLLT	6	EGA809	LP
289			290		
1	EGA790	YADHCRLFPTDWICTLVT	7	EGA810	KCNFNPWKAACG
289			290		LPEGCWWALWGRECLL
2	EGA791	YAEHCRLFPSDWICSLVT	8	EGA811	P
289		YAEHCRQFPADWICTLM	290		LLDACWWATWGKECIW
3	EGA792	T	9	EGA812	RN
289		YSEHCWMFPSDWICTLM	291		LTYVCWWNMWGYECLP
4	EGA793	E	0	EGA813	YE
289			291		LPDGCWWAQWGRECLL
5	EGA795	YAEHCSQFPTDWICTLLT	1	EGA814	KP
289			291		
6	EGA796	LAEHCYLFPCDWICSLLT	2	EGA815	LPAPCYWTTWGKECFIVP
289		YAEHCWQFPADWICTLL	291		
7	EGA798	P	3	EGA816	LIAPCYWTIWGKECFILD
289			291		HPDNCWWAVWGRECLL
8	EGA799	YREHCSLFNDWICTLMP	4	EGA817	LP
289			291		LSDPCYWTTWGKECFLL
9	EGA801	YAEHCSLFPTDWICSLMP	5	EGA818	R
290			291		LTAPCYWTTWGKECLLL
0	EGA802	YEEHCWLFPSDWICSLRQ	6	EGA819	R
290		LPEPCWWAPWGRECLLL	291		
1	EGA804	P	7	EGA820	LAEGCIWTTWGRECFLLP
290		LPQGCWWAVWGKECHL	291		LPDGCYWTVWGRECFLP
2	EGA805	LP	8	EGA821	P
290		LYDTCYWTTWGKECLM	291		LRDPCWWAVWGRECILL
3	EGA806	PR	9	EGA822	P
290		LPDGCTWMVWGRECFLL	292		QSPGCWWAVWGVCECILL
4	EGA807	P	0	EGA823	P

292 1	EGA824	IHEGCWWSSWGKECLL P	293 7	EGA843	LTPPCYWTIWGKECFMR Q
292 2	EGA825	LPEGCWWATWGRECLLE P	293 8	EGA844	LPEGCYWSVWGKECLLE S
292 3	EGA826	LPAGCYWANWGKECFL VP	293 9	EGA846	LTDQCYWATWGRECILL R
292 4	EGA828	LTDPCYWTTWGKECLLH R	294 0	EGA847	FPDGCYWAIWGRECLLQ P
292 5	EGA830	LPEGCWWAPWGKECLLS P	294 1	EGA848	LSGGCYWTTWGRECILLP
292 6	EGA831	LPAPCYWTTWGKECLMP R	294 2	EGA849	LSSPCYWTTWGKECFIR
292 7	EGA832	LPDGCYWSMWGRECLV P	294 3	EGA850	FPEGCWWALWGKECFLQ P
292 8	EGA833	VPQGCYWATWGRECYL LP	294 4	EGA851	LPDGCWWSVWGRECLM LP
292 9	EGA834	LPDSCWWSTWGRECILLP	294 5	EGA852	LPEDCWWAIWGRECLLT P
293 0	EGA835	LPAPCYWTTWGKECLLQ H	294 6	EGA853	LPEPCYWTTWGKECFMI H
293 1	EGA836	LQEGCFWAVWGKECILL P	294 7	EGA854	LPQGCYWAVWGRECLL P
293 2	EGA837	LNEHCYWALWGKECFLP R	294 8	EGA855	LPAGCWWSLWGKECYL LP
293 3	EGA838	LPEGCWWSPWGRECLL P	294 9	EGA856	LPEECWWAIWGRECHLL P
293 4	EGA840	LPEGCFWTVWGKECLLM P	295 0	EGA857	LPAGCWWSVWGRECLL MP
293 5	EGA841	LPDGCYWTTWGKECFMP R	295 1	EGA858	MPEGCFWAIWGRECFLL P
293 6	EGA842	LPEGCWWSPWGKECLL MP	295 2	EGA859	LPDPCWWAPWGRECVL MP

295			296		
3	EGA860	IPDGCYWAIWGRECFLLP	9	EGA879	IAEGCWWSIWGKECFLLP
295		LPAPCYWTTWGKECFLL	297		LPEPCYWTTWGKECHLP
4	EGA861	R	0	EGA880	N
295		LTDSCYWTTWGRECFLIP	297		LPPRCLWNPWGPECFLIH
5	EGA862		1	EGA881	
295		IHDPCYWTVWGRECLL	297		LTAPCWWTWSWGRECYLEF
6	EGA863	P	2	EGA882	G
295		LPEGCWWSAWGRECILL	297		RPDSCYWTTWGRECILWP
7	EGA864	Q	3	EGA883	R
295		LMGDCWWTWVGKECLL	297		LPERCWWAIWGRECILLP
8	EGA865	QP	4	EGA884	
295		VPDSCWWSQWGRECLLP	297		ISQGCWWSKWGRECLLP
9	EGA868	P	5	EGA885	P
296		LPEGCWWSVWGKECLM	297		IPHCWWAIWGRECILL
0	EGA869	LP	6	EGA886	P
296		LATPCYWTTWGKECLIPR	297		YPEHCWWFPSDWICTLM
1	EGA870		7	EGA888	T
296		LLGCSWHFWVYECLPP	297		YAEHCWRFPSDWICTLM
2	EGA871	P	8	EGA889	T
296		INPPCYWTTWGKECFLLH	297		YADHCRLFPNDWICTLIT
3	EGA872	R	9	EGA890	
296		LPEGCWWTQWGKECHL	298		YAQHCYLFPMDWICTLT
4	EGA873	AP	0	EGA891	T
296		FPAGCYWAHWGRECLL	298		YSEHCWQFPDDWICTLM
5	EGA874	P	1	EGA892	T
296		LPEGCWWSIWGKECLL	298		YAEHCRVFPTDWICTLRP
6	EGA875	P	2	EGA893	
296		LPEGCYWAIWGKECHMT	298		YGQHCSLFPTDWICSLMT
7	EGA876	P	3	EGA894	
296		IPEGCWWPWALECFLL	298		YAEHCRQFRTDWICTLM
8	EGA878	P	4	EGA895	T

298			300		YAEHCWQFPTDWICTLR
5	EGA896	YAEHCLTFPTDWICSLAQ	1	EGA912	S
298			300		
6	EGA897	YAGHCRDFPSDWICSLVP	2	EGA913	YEDHCSLFPKDWICGLMP
298			300		
7	EGA898	YAEHCWYFPTDWICTLT	3	EGA914	YAEHCWQFPTDWICTLLP
298			300		
8	EGA899	YQEHCVLFPTDWICSLTS	4	EGA915	YEEHCQLFPTDWICTIRT
298			300		
9	EGA900	YADHCCHFPADWICTLN	5	EGA916	YAEHCWLFPTDWICSLM
		A			T
299			300		
0	EGA901	YAEHCWLFPTDWICSLM	6	EGA918	YAEHCWQFPTDWICTLM
		P			S
299			300		
1	EGA902	YADHCLQFPLDWICTLM	7	EGA919	YAEHCRQFPTDWICGLM
		K			T
299			300		
2	EGA903	YAEHCTQFPTDWICTLTS	8	EGA920	YADHCSQFPTDWICTLIP
299			300		
3	EGA904	YAEHCRQFPSDWICTLMT	9	EGA921	YSEHCWLFPTDWICTLVP
299			301		
4	EGA905	YSEHCYLFPTDWICTLPT	0	EGA922	YAAHCWQFPTDWICTLIP
299			301		
5	EGA906	YVDHCWDFPTDWICTLL	1	EGA924	YAEHCWLFPSDWICTLM
		S			P
299			301		
6	EGA907	YIEHCWQFPTDWICTLMT	2	EGA925	YAEHCYMFPTDWICTLT
					A
299			301		
7	EGA908	YADHCRFFPTDWICTLMP	3	EGA927	YTEHCWLFPTDWICSLMP
299			301		
8	EGA909	YAQHCMQFPTDWICTLM	4	EGA929	YEQHCWHFPNDWICTLM
		T			T
299			301		
9	EGA910	YADHCWQFPSDWICTLL	5	EGA930	YAEHCWLFPTDWICTLM
		A			T
300			301		
0	EGA911	YARHCMQFPTDWICSLTT	6	EGA931	YYEHCTLFPSDWICTLMT

301 7	EGA932	YEEHCALFPTDWICTLH	303 3	EGA949	YADHCWLFPPNDWICTLIK
301 8	EGA933	YGEHCWQFPTDWICTLV T	303 4	EGA950	YAEHCWLFPTDWICTLRT
301 9	EGA934	YSEHCWLFPSDWICSLDT	303 5	EGA951	FQGHCALFPTDWICTLKS
302 0	EGA935	YDEHCRQFPTDWICKLTT	303 6	EGA952	YAEHCRLFPADWICSLMT
302 1	EGA936	YAEHCYRFPTDWICTLMS	303 7	EGA953	YAEHCGLFPTDWICTLMT
302 2	EGA937	YAGHCSRFPDWICTLM A	303 8	EGA954	YREHCGQFPNDWICSLLT
302 3	EGA938	YAQHCWQFPADWICTLIE	303 9	EGA955	YVEHCYQFPADWICTLK T
302 4	EGA939	YDEHCLKFPADWICSLPR	304 0	EGA956	YAEHCRHFPSDWICTLTK
302 5	EGA940	YAGHCNLFPTDWICTLKT	304 1	EGA957	YAEHCSQFPTDWICSLLT
302 6	EGA941	YEEHCGLFPTDWICTLMD	304 2	EGA959	YAVHCWQFPADWICSLE M
302 7	EGA942	YSEHCWLFPTDWICTLPT	304 3	EGA960	YEEHCLQFPADWICTLLP
302 8	EGA944	YAEHCWMFPTDWICSLL P	304 4	EGA961	YAEHCGMFPNDWICSLT K
302 9	EGA945	YAEHCWQFPSDWICTLLP	304 5	EGA962	YADHCAHFPTDWICTLM T
303 0	EGA946	YAEHCWRFPTDWICTLM T	304 6	EGA963	YPEHCWLFPTDWICTLVA
303 1	EGA947	YTSHCRHFPPNDWICTLLP	304 7	EGA964	YAEHCWQFPADWICSLPS
303 2	EGA948	YAEHCWQFPHDWICTLT K	304 8	EGA965	YAEHCWQFPTDWICSLL D

304 9	EGA966	YAQHCWMFPADWICTL MT	306 5	EGA982	LPDGCWWSTWGRECLLV P
305 0	EGA967	YLAHCWHFPNDWICSLL P	306 6	EGA984	LPEGCYWAIWGKECLLP L
305 1	EGA968	YTKHCQRLPTYKICNLFM	306 7	EGA985	DPYGCYWAAWGRECLL LP
305 2	EGA969	YSEHCWLFPTDWICHLM P	306 8	EGA986	LPEGCWWSVWGRECLLP S
305 3	EGA970	YAEHCYNFPSDWICSLLT	306 9	EGA987	LPEDCWWATWGRECLL QP
305 4	EGA971	YAEHCWQFPTDWICSLM T	307 0	EGA988	LPEGCHWAIWGRECLLP L
305 5	EGA972	YEEHCWQFPADWICTLL T	307 1	EGA989	LPEGCWWANWGRECLL LP
305 6	EGA973	YAEHCWHFPSDWICTLK E	307 2	EGA991	IPEGCWWAQWGRECILA A
305 7	EGA974	YAMHCSQFPSDWICTLM T	307 3	EGA992	ISDGCFWAVWGRECLLA A
305 8	EGA975	YAEHCRQFPTDWICSLMT	307 4	EGA993	GTDGCWWEVWGRECLL TP
305 9	EGA976	YEEHCWLFPSDWICTLMP	307 5	EGA994	LPEGCWWSPWGRECLLP P
306 0	EGA977	YAEHCWLFPTDWICNLIP	307 6	EGA995	LTEPCYWTTWGKECHMP R
306 1	EGA978	YEKHCYQFPSDWICSLKT	307 7	EGA996	DEAGCWWIWWGRECILS P
306 2	EGA979	LPDGCCWLQWGMECHL CP	307 8	EGA997	IHDHCCWTIWGYECQLC P
306 3	EGA980	IPDDCYWTVWGRECLLV P	307 9	EGA998	LHDGCWWEVWGRECFV PS
306 4	EGA981	LTDGCYWTIWGRECLL P	308 0	EGA999	FPDVCYWTVWGRECLL P

308 1	EGA100 1	HPDGCYWTVWGRECLLP P
308 2	EGA100 2	YSEVCWWEVWGRECFL RS
308 3	EGA100 3	LPEDCWWAQWGRECFLP A
308 4	EGA100 4	LNDPCYWTTWGKECLLP R
308 5	EGA100 5	YEEHCGQFPTDWICTLIS
308 6	EGA100 6	YEEHCWLFPSDWICTLM T
308 7	EGA100 7	YEEHCWLFPTDWICTLVT
308 8	EGA100 8	YAEHCWLFPSDWICTLLT
308 9	EGA100 9	YAEHCCRFPDWICTLMS GQAAAGGSQAQICRLPS DRVCTLMP
309 0	EGA101 0	PESWCHTLYWNLQHCLS QE
309 1	EGA101 1	LPEGCYWATWGKECLLQ P

Связывающие ErbB2 домены MRD

SE	Иденти	Пептидная	312	EGB13	ICSRWPYWPHCWGQARQ
Q	фикации	последовательность	6	3	AAGGGSNCSHEPGSVVCL
ID:	онный		312	EGB13	WCRYYSVVCS
	номер		7	4	
			312	EGB13	ICWIGTFGCA
			8	7	
311	EGB98	LCFAHQAMFCN	312	EGB22	PPYRCIPSESWICSFILGQA
3			9	1	
311	EGB10	TCHPSWGGKTCT	313	EGB22	QGGGCRGPHWYQMFYCV
4	4		0	2	SPS
311	EGB10	ICVAMTVTCS	313	EGB22	LVSFCPWGPDWYCSHYH
5	6		1	4	
311	EGB11	FCIHFPHSWVCH	313	EGB22	PPRWWCEHYGVQDLMCP
6	7		2	5	GLF
311	EGB12	WCHLFPYSQWCH	313	EGB22	SVFDCKYAPMWYCKHYL
7	2		3	7	
311	EGB12	ICKYFPFSHFCW	313	EGB24	GSLGCVLPMVFCRSYQ
8	3		4	9	
311	EGB12	WDHWHIWHFG	313	EGB26	YGKVLCSKWQCCKLLR
9	5		5	3	
312	EGB12	LCETQPVSFSCSGQACPGG	313	EGB26	FCHLCQMFPWCFLQT
0	7	GGGSLCQFWPHIDFCV	6	4	
312	EGB12	WCHFQIWHHPY	313	EGB28	RWVHCKQHGHYFSQRCIE
1	8		7	9	TW
312	EGB12	FCQFFPWTMVCQ	313	EGB31	PRRWCHMDFHHSMPCHW
2	9		8	0	HL
312	EGB13	MPWEYLHQHQ	313	EGB31	HTRKCHKFMFQHKHCIEV
3	0		9	5	L
312	EGB13	HCNWAPWWGYCMGQAG	314	EGB33	MVVPCFTSQRQMAPACIA
4	1	QGRCTAGGGSHCYWPPN	0	4	PRGQAGQGPGCGRWLP
		TRCW			RQRCFIKHGHMSESCMVS
312	EGB13	PCVFVIEGCF			A
5	2				

314 1	EGB33 5	YGKKCDKHDHSPGVCIK KY	315 7	EGB38 6	WSGWCFHETHWQHCSAG G
314 2	EGB33 9	LLFDCWRIPEWHACGKDY	315 8	EGB38 7	WTGWCLVENQWTYCQN GD
314 3	EGB34 4	WNRICMYQWANHFTVCA PGP	315 9	EGB38 8	WSGWCFEEAGWGHCMG LP
314 4	EGB35 0	ERALCHKPWSHIMPWCPQ KL	316 0	EGB38 9	WSGYCFDRGYWQQCSSA W
314 5	EGB35 4	WKPWCKLYWRADPACLQ IK	316 1	EGB39 1	WSGYCYVFDHWESCRGR E
314 6	EGB35 6	WSGWCMTWGWAPCRS VD	316 2	EGB39 2	WSGWCFKEAGWGHCMG LP
314 7	EGB35 8	WSGWCVKQNAWYFCTG KI	316 3	EGB39 3	WSGCCHWEAAWNNCGG WT
314 8	EGB36 4	VAQSSAFCEEFPVHWYCS FYVG	316 4	EGB39 4	WSGWCNISQWRHCGSP D
314 9	EGB36 6	VAQSTPSCGMPKWYCIHY FG	316 5	EGB39 5	WTGWCEGHGQWGWCHS SL
315 0	EGB36 7	VAQSSEHCYFGWNSYHC WSQAG	316 6	EGB39 6	WVVSCHTSTQVLMCVCL L
315 1	EGB37 3	VAQREKHCVPWEYCKHY M	316 7	EGB39 8	WSGYCNSNGAWMMCGG GT
315 2	EGB37 5	WSGWCWSDESKYWYSCH SRA	316 8	EGB39 9	WSGWCFEQAGWGHCLGL P
315 3	EGB38 0	WSGLCLWDMFWQQCHGS S	316 9	EGB40 0	WSGWCQSHGEWMRCRS WT
315 4	EGB38 3	SVLGCDDVGFYQCLEFLG QA	317 0	EGB40 1	WSGWCEEQFGWSQCRRS P
315 5	EGB38 4	WSGWCQFKDGQWAKCT GRV	317 1	EGB40 3	WSGWCFQETHWQHCMG LR
315 6	EGB38 5	WSGYCFDSTHEGWYQCG AVS	317 2	EGB40 4	WTGFCFDENHWYICGTGR

317 3	EGB40 6	WRGWCQIAGEWQHCSNY S	318 9	EGB42 7	WSGWCYSQALMSWTYCH EFK
317 4	EGB40 7	WTGYCVDQERHQWHQCF GRS	319 0	EGB42 8	WSGWCFYQVEYIWRSCPE AS
317 5	EGB40 8	WQGYCYQEVYALWDHCS GPL	319 1	EGB42 9	NRSGCIEIHYEDCLLIV
317 6	EGB40 9	WSGWCFAMEHQKWKQC AGSS	319 2	EGB43 0	WTGWCYMEHFWDICHGP A
317 7	EGB41 0	GSMLCLWFNDNPQCFEVC	319 3	EGB43 1	WTGYCLSSERHKWHHCF GRS
317 8	EGB41 1	WSGWCETPHQWHDCKGT I	319 4	EGB43 2	WSGWCFQFDNWDRCPGS V
317 9	EGB41 2	MIEFCWYYMALPECWIPT	319 5	EGB43 3	WSGYCQMKDHWAHCGH SE
318 0	EGB41 3	IIFCWYLQQYDECWVPK	319 6	EGB43 5	WSGWCLFADGWGHCHY VI
318 1	EGB41 4	WSGYCYEGVTWRSCWGD M	319 7	EGB43 6	WSGWCFIKTHWGHCHYQ I
318 2	EGB41 6	WSGWCFQFDNWDHCTGS V	319 8	EGB43 7	WSGWCFYVDHWDYCGG LI
318 3	EGB41 9	SFTLTGHAHQCLCHVL	319 9	EGB43 8	WSGYCEGTDHWYHCGGS M
318 4	EGB42 0	WSGWCQHMQVPIWHACS GGL	320 0	EGB43 9	WSGWCFYGDRWGHCSGL P
318 5	EGB42 1	WSGLCLTEEVWHVCQGTI	320 1	EGB44 0	WSGWCFYGSYWGHCCKI L
318 6	EGB42 3	WTGFCQSSKTQKWQHCR GGG	320 2	EGB44 1	WSGYCEFDHWDYCGTP K
318 7	EGB42 5	WSGWCEEEELQWSFCSGH L	320 3	EGB44 2	WSGWCLMETGWGHCKG LP
318 8	EGB42 6	WSGYCVDFEFPAWGYCH GNI	320 4	EGB44 4	WSGWCF SADGWGHCRGV I

320	EGB44	WSGYCDMGDHWSHCGHS	322	EGB46	WSGYCEFKDHWDFCGHS
5	5	G	1	5	A
320	EGB44	WSGWCFYGSWWDYCSG	322	EGB46	WSGWCFLD SGWGH CQGL
6	6	GH	2	9	I
320	EGB44	WSGYCEFEDHWDFCGTSR	322	EGB47	WSGWCFNSNGWYQCGGL
7	7		3	0	I
320	EGB44	WSGYCEYQDRWAHCGGT	322	EGB47	WSGWCFFGASWGHCSGF
8	8	PGQAGQGGGSWSGYCRT	4	1	P
		EGHWAHCGGSV	322	EGB47	WSGWCFFGAGWDYCHG
320	EGB45	WSGWCLGEAGWGHCRGL	5	2	QP
9	0	L	322	EGB47	WSGYCEFKDHWDYCGGS
321	EGB45	WSGWCLYESGWGH CYG	6	3	E
0	1	WI	322	EGB47	WSGWCFYGTGWGYCYGL
321	EGB45	WSGYCEYKYKWDHCGTS	7	4	I
1	2	V	322	EGB47	WSGYCEYKHHWAHCGTR
321	EGB45	WSGYCEFKDHWAHCGGS	8	6	H
2	3	L	322	EGB47	WSGYCLMKDHWAHCGH
321	EGB45	WSGWCLGETGWGHCSG	9	7	SE
3	5	MP	323	EGB47	WSGWCMGMSGWDHCRG
321	EGB45	WSGYCEFKDHWAHCGGS	0	8	LI
4	6	V	323	EGB47	WSGYCEINGKWDYCSHS
321	EGB45	WSGYCEFQDHWGYCGNT	1	9	H
5	8	E	323	EGB48	WSGWCFFGAGWGHCFGN
321	EGB45	WSGYCEFKDYWAHCSGS	2	0	P
6	9	M	323	EGB48	WSGWCLQGAGWGHCSG
321	EGB46	WSGYCEYSDHWAHCGGS	3	1	RI
7	0	L	323	EGB48	WSGWCFNGVGWGHCFGL
321	EGB46	WSGWCLYDAGWGYCSGL	4	2	I
8	2	Q	323	EGB48	WSGWCFYEAFWGHCTGP
321	EGB46	WSGYCEMQDHWDYCSGS	5	3	T
9	3	I	323	EGB48	WSGWCFDGDGWGYCTG
322	EGB46	WSGWCFTEGVWGHCKGL	6	4	VS
0	4	G			

323 7	EGB48 5	WSGWCLRSNGWDYCHGP T	325 3	EGB50 1	WSGWCEYELHWSYCWGP L
323 8	EGB48 6	WSGWCLSGAGWGYCSGL P	325 4	EGB50 2	WSGWCEGELYWSYCSGY L
323 9	EGB48 7	WSGWCFFGSAWGHCHGF P	325 5	EGB50 3	WSGWCEYELSWSFCSGL
324 0	EGB48 8	WSGWCFYSTHWAQCKGG H	325 6	EGB50 4	WSGWCEYEGFWSFCSGN L
324 1	EGB48 9	WSGWCESTRGWSFCSSPL	325 7	EGB50 5	WSGWCEGVLQWYFCSGH I
324 2	EGB49 0	WSGWCESELQWGFCSGL L	325 8	EGB50 6	WSGWCEYDLHWSFCSGH L
324 3	EGB49 1	WSGWCEGETQWYFCSGH L	325 9	EGB50 7	WSGWCLGKAGWGHCGG LI
324 4	EGB49 2	WSGWCEYELQWSFCSGQ L	326 0	EGB50 8	WSGWCFFGSHWGHCFGS P
324 5	EGB49 3	WSGWCEGEREWFFCSGHI	326 1	EGB50 9	WSGWCLLDAEWGHCSGL I
324 6	EGB49 4	WSGWCEYEHHWDFCSGH L	326 2	EGB51 0	WSGWCLSDGWGHCWG LM
324 7	EGB49 5	LPPPCYWTTWGKEQMF D	326 3	EGB51 1	WSGWCLSGTGWGHICYL H
324 8	EGB49 6	WSGWCFSSSGWGFCGGL N	326 4	EGB51 3	WSGWCLVGTQWSFCSGLI
324 9	EGB49 7	WSGWCFSPAGWGHICYGL S	326 5	EGB51 4	WSGWCEKEFLWTFCSGTI
325 0	EGB49 8	WSGWCLDRAGWGHCHG LI	326 6	EGB51 5	WSGWCESDTHWSFCSGQ L
325 1	EGB49 9	WSGWCLTKSGWGHCLGP T	326 7	EGB51 6	WSGWCEGVSEWSFCSGLI
325 2	EGB50 0	WSGWCLYEFGWGYCSGL I	326 8	EGB51 8	WSGWCLGLDGWDHICYG RP

326 9	EGB51 9	WSGWCFFGDRWGHCHGQ P	328 5	EGB53 8	WSGWCEGEREWYFCSGF F
327 0	EGB52 0	WSGWCFVGASWGH CYG MI	328 6	EGB53 9	WSGWCEGKLKWN YCSGY L
327 1	EGB52 1	WSGWCLSDAGWGACGG AS	328 7	EGB54 0	WSGWCEQDQKWN YCSG YI
327 2	EGB52 2	WSGWCLEWNGWGHCSGI P	328 8	EGB54 2	WSGWCFYEVRWGHCHGS I
327 3	EGB52 3	WSGWCEGELQWFFCSGTI	328 9	EGB54 3	WSGYCLES SGWGHCGGL L
327 4	EGB52 4	WSGWCEGEHHWYFCRGN F	329 0	EGB54 4	WSGWCLSYSGWGHCSGS P
327 5	EGB52 6	WSGYCEGEQQWFYCSGQ V	329 1	EGB54 5	WSGWCFYGDYWGHC SG QP
327 6	EGB52 7	WSGWCENKVGWSFCSGH I	329 2	EGB54 6	WSGWCFKITGWGHCSGLI
327 7	EGB52 8	WSGWCEGERTWHFCSGP L	329 3	EGB54 7	WSGWCENELQWSFCSGHI
327 8	EGB53 0	WSGWCCFGTSGWGYCHGP P	329 4	EGB54 8	WSGWCEGERQWSFCSGSI
327 9	EGB53 1	WSGWCLLDAGWGHCKG ML	329 5	EGB54 9	WSGWCEYEFKWSFCSGHI
328 0	EGB53 2	WSGWCFYGHGWGHCHG TP	329 6	EGB55 0	WSGWCEHEMYWSYCSGH K
328 1	EGB53 3	WSGWCFDYTRWGHCSG MP	329 7	EGB55 1	WSGWCEGELRWFFCSGTL
328 2	EGB53 4	WSGWCLFSAGWGHCSGLI	329 8	EGB55 3	WSGWCFYGTHWGHCGGL P
328 3	EGB53 5	WSGWCEGELQWSFCWGH I	329 9	EGB55 4	WSGWCFDGGRWGYCSGP L
328 4	EGB53 7	WSGWCEEEHQWSFCSGYI	330 0	EGB55 5	WSGWCLKGDGWGHCWG LI

330	EGB55	WSGWCLRVSGWDHCSGH	331	EGB57	WSGWCEGERKWSYCSGQ
1	6	P	7	3	I
330	EGB55	TDSWCHTLYWALQHCVA	331	EGB57	WSGWCEGELHWYSCSGH
2	7	QE	8	4	M
330	EGB55	WSGWCLMGDSWGHCSGL	331	EGB57	PDSWCHTLYWDLLYCVN
3	8	I	9	5	QE
330	EGB55	WSGWCEGEVGVFFCSGY	332	EGB57	WSGWCETPCGWESCHGTI
4	9	L	0	7	
330	EGB56	WSGWCEYELQWSFCFGPS	332	EGB57	WSGWCESTDSWHFCRGNI
5	0		1	9	
330	EGB56	PDSSCHTLYWQLHHCARR	332	EGB58	WSGWCETPSGWKACRGN
6	1	E	2	0	I
330	EGB56	WSGWCEGDLQWYYCSGH	332	EGB58	WSGWCETGVGWHECHGT
7	2	I	3	1	I
330	EGB56	WSGWCEEALRWSYCSGHI	332	EGB58	WSGWCEAERQWTFCSGHI
8	3		4	2	
330	EGB56	WSGWCLGDAGWGHCGG	332	EGB58	WSGWCENSEGWDFCNGT
9	5	LP	5	3	I
331	EGB56	WSGWCCFFDTHWGHCSGL	332	EGB58	WSGWCETQKGWHSCHGS
0	6	L	6	4	I
331	EGB56	WSGWCFNHGAWGHCRG	332	EGB58	WSGWCLTGTDWHFCRGFI
1	7	LI	7	5	
331	EGB56	WSGWCEYHTGWRHCHGL	332	EGB58	WSGWCETYKGWHACHG
2	8	I	8	6	KI
331	EGB56	WSGWCLTREGWGHCKGL	332	EGB58	WSGWCETNAGWIQCYGSI
3	9	I	9	7	
331	EGB57	WSGWCLSGVGWFHCKG	333	EGB58	WSGWCQTGANWHYCNG
4	0	MI	0	8	TI
331	EGB57	WSGWCEGESQWFFCSGLI	333	EGB58	WSGWCLADGMWGHCHNG
5	1		1	9	TI
331	EGB57	WSGWCEYESHWSFCSGHI	333	EGB59	WSGWCEGRDAWYQCKG
6	2		2	0	TI

333	EGB59	WSGYCLTDGTWHHCKGT	334	EGB60	WSGWCETSGGWHYCKGT
3	1	I	9	9	I
333	EGB59	WSGWCKTGKKWHHCGG	335	EGB61	WSGWCETDQGWHHCWG
4	2	TI	0	0	TI
333	EGB59	WSGWCETSSGWHQCSGII	335	EGB61	WSGWCETKFGWNYCKGS
5	3		1	1	I
333	EGB59	WSGWCEEKGQWVSCGGS	335	EGB61	WSGWC FATSGWHSCRGT
6	5	L	2	2	A
333	EGB59	WSGWCEGELQWYFCSGH	335	EGB61	WSGWCETGNGWDRCWG
7	6	L	3	3	NI
333	EGB59	WSGWCEGEHKWSFCSGH	335	EGB61	WSGWCEGQLQWFFCSGQI
8	7	L	4	4	
333	EGB59	WSGWCESDKGWYQCRGT	335	EGB61	WSGWCERSWGWEQCRGT
9	8	I	5	5	I
334	EGB59	YEEHCRLFPADWICSLQ	335	EGB61	WSGWCEYEEKWAFCSGY
0	9		6	6	I
334	EGB60	WSGWCETPGHWYQCRGS	335	EGB61	WSGYCEGELQWYFCTGH
1	0	I	7	7	L
334	EGB60	ADSWCHTLYWNLRHCEIQ	335	EGB61	WSGWCETSVGWHKCSGT
2	1	E	8	8	I
334	EGB60	WSGWCNSGGGWHQCRG	335	EGB61	WSGWCRIETGWDFCSGTI
3	2	TI	9	9	
334	EGB60	WSGWCLTDNKWHSCIGTI	336	EGB62	WSGWCETSKGWHFCSGTI
4	3		0	0	
334	EGB60	WSGWCETDRGWHDCGT	336	EGB62	WSGWCESSHGWHGCKGII
5	4	I	1	1	
334	EGB60	WSGWCETKDHWACNGI	336	EGB62	WSGWCEYNGYWDYCTG
6	5	I	2	2	TI
334	EGB60	WSGWCEGELQWYFCSGK	336	EGB62	WSGWCETGKYWHYCSGT
7	6	I	3	3	I
334	EGB60	PESWCHTLYWNLQHCLSQ	336	EGB62	WSGWCEGKHQWYFCSGN
8	7	E	4	4	L

336	EGB62	WSGWCETELGWHQCRGT	338	EGB64	WSGWCETVNGWHQCTGT
5	5	I	1	2	I
336	EGB62	WSGWCEGQTKWYFCSGQ	338	EGB64	WSGWCLTKNSWDFCSGTI
6	6	I	2	3	
336	EGB62	WSGWCLFDSKWDYCQGN	338	EGB64	WSGWCLTNGVWHGCRGI
7	7	I	3	4	I
336	EGB62	ANSWCHTLYWDLMYCV	338	EGB64	WSGFCLTEESWHHCTGPI
8	8	WQE	4	5	
336	EGB62	WSGWCQTGMRWHQCYG	338	EGB64	WSGWCEAIDMWYQCHGP
9	9	TI	5	6	I
337	EGB63	WSGWCESENGTWHGCKGT	338	EGB64	WSGWCFTGDLWHACTGII
0	0	I	6	7	
337	EGB63	WSGWCEGKHGWYSCRGT	338	EGB64	WSGWCEGELQWYYCSGK
1	1	I	7	8	I
337	EGB63	WSGWCETLSGWHQCHGV	338	EGB64	WSGWCEGEFQWYFCSGQ
2	2	I	8	9	F
337	EGB63	WSGWCEGKEKWHHCNGS	338	EGB65	WSGWCETNGKWDFCQGT
3	3	I	9	0	I
337	EGB63	WSGWCETSEGWHSCYGS	339	EGB65	WSGWCETPVGWEQCTGTI
4	4		0	1	
337	EGB63	WSGWCLNELGWQQCFGT	339	EGB65	WSGWCEGKLHWYFCSGH
5	5	I	1	2	M
337	EGB63	WSGWCERVSGWNYCHGT	339	EGB65	WSGWCEGALGWSSCSGH
6	6	I	2	3	G
337	EGB63	WSGWCYAPTGWHHCVGT	339	EGB65	YEEHCALFPTDWICTLH
7	8	I	3	4	
337	EGB63	WSGWCETGTGWYHCGGT	339	EGB65	WSGWCEGIGAWHFCKGII
8	9	I	4	5	
337	EGB64	PDSWCHTLYWHLQHCLS	339	EGB65	WSGWCESENDGWYQCKG
9	0	QE	5	6	DI
338	EGB64	WSGWCEYELRWDFCSGHI	339	EGB65	WSGWCETLNGWYGCHGT
0	1		6	7	M

339 7	EGB65 8	WSGWCENNDGWHHCHG SI	341 3	EGB69 3	LGGRCLMLFALKQCSMGH
339 8	EGB65 9	WSGYCETGRGWHMCQGT I	341 4	EGB69 6	WSRLCTMRPSTCGVWE
339 9	EGB66 0	WSGWCETVTGWDYCNG KI	341 5	EGB69 7	RSWHCSHQMGSKPHCVLS P
340 0	EGB66 1	WSGWCETDEGWRQCSGT I	341 6	EGB69 8	TWFRCTPHKHHYHCKHN V
340 1	EGB66 2	WSGWCMTLDKWHQCYG TI	341 7	EGB70 5	GIWICRHDSPLYMKPHCIFT S
340 2	EGB66 3	WSGWCETNNGWYACWG MI	341 8	EGB70 7	TWSKCFMVPLGDYCTRAL
340 3	EGB66 4	WSGWCNEAGWGHYCYGL P	341 9	EGB70 8	SVWKCVKHPFKIKPLCKL ES
340 4	EGB66 5	WSGWCETDRGWHECHGT I	342 0	EGB71 0	RTWFCEKMHGQKFHCVS WF
340 5	EGB66 6	WSGWCETKFGWSYCKGT I	342 1	EGB71 2	ADSWCHTLFWQLQHCVW QE
340 6	EGB66 8	WSGWCEGEDGWHSCRGT I	342 2	EGB71 4	KWRCCYGQFQPACNAVS
340 7	EGB66 9	WSGWCETSKGWHFCSGII	342 3	EGB71 6	PRYKCVFNWEVQKWQCS VWS
340 8	EGB67 0	PKYSCVYSIMKEKWHCRA QT	342 4	EGB72 2	PNRYCYTYPHSVKCAWM Y
340 9	EGB67 3	FKPHCVYKHQTWVCGPP A	342 5	EGB72 3	DPSRCSKAYQMLYQCRTL I
341 0	EGB67 5	THMHYQHKHHYHCRIS L	342 6	EGB72 9	STDLCWPHKKHWHCPPA N
341 1	EGB68 6	GPELCHHMAGHEWCLRY Y	342 7	EGB73 0	SAWYCTKHMPQSKYHCIS MR
341 2	EGB69 2	HRSKCFMMYWDENCLQP W	342 8	EGB73 2	KWWKCGVIFEICQIVP

342 9	EGB73 8	AQLKCFEKLVMCRHHL	344 5	EGB78 8	WSGYCEYKDHWDCGSS V
343 0	EGB73 9	VDRVCQFFMQKCWSSP	344 6	EGB78 9	WSGYCEYKDHWDFCGNV D
343 1	EGB74 0	KWTRCIPRMETHTCDCLL	344 7	EGB79 1	WSGYCEYRDHWAHCGGS L
343 2	EGB74 6	KLPQCLWEWDNRDCRWL L	344 8	EGB79 2	WSGYCEFEYWAHCGGSI
343 3	EGB74 8	LHRFCDHFQICRFCN	344 9	EGB79 5	WSGYCEYIDHWGYCQGSI
343 4	EGB75 8	LICKQHKNHWHCRNYY	345 0	EGB79 6	WSGYCEMNDHWDCYCG SI
343 5	EGB76 3	KPWKCFYSYKIQHWKCH GVS	345 1	EGB79 8	WSGYCEYKDHWGYCGGS I
343 6	EGB77 0	TDSWCHTLYWQLHHCAIL E	345 2	EGB79 9	WSGYCQLMDHWDCYCHG QG
343 7	EGB77 1	KWRCCYGFQACNAVS	345 3	EGB80 2	WSGYCEMTDHWAHCSGS H
343 8	EGB77 8	WTHACVVWNMKQMEAC TSLT	345 4	EGB80 3	WSGYCEFDHWDYCHGS V
343 9	EGB77 9	LLNQCLQWAFHNCGCWN	345 5	EGB80 5	WSGYCEMKDHWAHCGG LI
344 0	EGB78 0	WSGYCELKDRWAYCSGSI	345 6	EGB80 6	WSGYCEFKDHWDCYCHGS V
344 1	EGB78 1	HRAPCFSTACRQPCFSLT	345 7	EGB80 7	WSGYCEMGDHWDCYSGS V
344 2	EGB78 5	WSGYCEMKGWYAHCTGL I	345 8	EGB80 8	WSGYCEFNFWAHCGGFI
344 3	EGB78 6	WSGYCEFLDHWDCSGG E	345 9	EGB80 9	WSGYCLMKDHWGYCGG WI
344 4	EGB78 7	WSGYCEYKDHWDCGSS V	346 0	EGB81 0	WSGYCEFDHWDYCGNS E

346	EGB81	FQGHICALFPTDWICTLKS	347	EGB83	WSGYCEFRDHWDYCGNS
1	1		7	2	Y
346	EGB81	WSGYCEFKTHWGHCGNP	347	EGB83	WSGYCEFKDHWDYCGNS
2	3	Q	8	4	D
346	EGB81	WSGYCEFKDHDHCHSS	347	EGB83	WSGYCEFKDHWDFCGGS
3	4	G	9	5	Y
346	EGB81	WSGYCEKEGYWAHCRGT	348	EGB83	WSGYCQTNDHWDYCSGT
4	6	I	0	6	I
346	EGB81	WSGYCEMKGHWAHCGG	348	EGB83	WSGYCESYDHWYHCGGT
5	7	SP	1	7	L
346	EGB81	WSGYCNMGDHDHCSGS	348	EGB83	WSGYCEYEDHWDYCGT
6	8	I	2	8	WV
346	EGB82	WSGYCEFKDHWAHCSGS	348	EGB83	WSGYCEMEDRWAYCSGS
7	0	L	3	9	I
346	EGB82	WSGYCEMKGYWDFCGGL	348	EGB84	WSGYCEFKDHDHCGGS
8	2	I	4	0	L
346	EGB82	WSGYCEFQDYWDYCGGS	348	EGB84	WSGYCQMKDHWDYCSGS
9	3	I	5	5	L
347	EGB82	WSGYCEMEHGWDYCSGT	348	EGB84	WSGYCEGKEHWYQCGGP
0	4	I	6	7	L
347	EGB82	WSGYCEFKDHDHCGDS	348	EGB84	WSGYCEFNDHWAHCHGS
1	5	E	7	8	P
347	EGB82	WSGYCELEDHWAFCGGTI	348	EGB84	WSGYCEFKDRWAHCSGSI
2	6		8	9	
347	EGB82	WSGYCEFKGYWDFCYGS	348	EGB85	WSGYCEFKGYWDHCGSS
3	7	M	9	0	K
347	EGB82	WSGYCEGQYFWYHCSGS	349	EGB85	WSGYCEYKDRWAHCRGT
4	9	G	0	1	M
347	EGB83	WSGYCEFQDHDHCFGS	349	EGB85	WSGYCEFKDHWDYCGGS
5	0	S	1	2	Y
347	EGB83	WSGYCEMNDHWYCYG	349	EGB85	WSGYCEMKDHWAHCSGS
6	1	PK	2	3	I
349	EGB85	WSGYCEYQDHWAHCGRS			
3	4	M			
349	EGB85	WSGYCEFSHDHDHCGNS			
4	5	K			
349	EGB85	WSGYCEMKDHWAHCGG			
5	7	SI			

Связывающие ErbB3 домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикации онный номер	Пептидная последовательность	351	EGC54	KVMFCWVMWKQCSSPP
			2		
349	EGC1	VYQLCIKMWVCTWHG	351	EGC93	SLVSCPVHNPIWWSHCM
			3		EIM
350	EGC2	DLVGCLLFSHVSCFSPL	351	EGC94	GHRLCIWMQNFVDGHCA
			4		GLV
350	EGC3	PTLSACMEAKCVLIFL	351	EGC99	CHVSCPFYNPNWWSHCM
			5		ELM
350	EGC5	LLWRCELMPPWPYMCSE VD	351	EGC100	FLEMCMDWNPKTWCYC
			6		MEWM
350	EGC13	GTQECAQDDYFRYWCLR TW	351	EGC101	SFVMCPVYNPKQWSVCM
			7		EIL
350	EGC14	LDLCMTIERPHRQCPCG	351	EGC102	LFLMCLVYPSEKWHVCV
			8		ETL
350	EGC19	LWRWCVWARDCPQSS	351	EGC104	SLVKCPFFNPIWWSHCME
			9		LM
350	EGC20	IAREFCMNYQCLRLLR	352	EGC106	WSHACIVYNDKIMGACT
			0		CLT
350	EGC21	SYWVCLTYFICWPSW	352	EGC115	DQVRCPFQNPVWWSHC
			1		MYLL
350	EGC39	VQQFVHWMESWNPACF WRM	352	EGC117	PLERCPFQNPWFVSHCME
			2		ML
350	EGC40	LLNQCLQWAFHNCGCW N	352	EGC120	KFFMCQVYPSNRWAVCV
			3		ETL
351	EGC44	LSWWCRMGWFEYGECE NFLF	352	EGC121	TFYVCQIYPSGKWHVCV
			4		GTC
351	EGC48	WTHACVVWNMKQMEA CTSLT	352	EGC122	RFFMCQVYPSYKWHVCV
			5		ESW
351	EGC48	WTHACVVWNMKQMEA CTSLT	352	EGC123	KFLMCRLYPSGKWHVCV
			6		ETL
351	EGC48	WTHACVVWNMKQMEA CTSLT	352	EGC125	LEVYCPFENPIWWARCM
			7		ELM

352 8	EGC127	SRVRCPFQNPWLHCHM KMT	354 4	EGC145	KFIMCQVYPSEWHVCL ETM
352 9	EGC128	SQVRCPFQNPWRNHCHM ELI	354 5	EGC150	SDVYCPFSNPAWWVHC MEML
353 0	EGC129	PKVRCPFQNPWWSHCHM EML	354 6	EGC151	TQVYCPFANPVWWNHCH MLLS
353 1	EGC130	NFVMCQVYPSYTWVHC VGTL	354 7	EGC152	KFFMCQIYPSLKWVHC EKL
353 2	EGC132	KFMICRLYPGNLHCHVE TS	354 8	EGC153	KFVMCQVYPSEKWHVCI APL
353 3	EGC133	TFMVCQVYPSLKWVHC ETG	354 9	EGC154	QFFMCQVYPSLRWSVCQ VTL
353 4	EGC134	RFVMCQVYPSLNWVHC QTL	355 0	EGC155	GFVMCQVYPSQKWHVC LDTF
353 5	EGC135	SPVRCPFQNPWYHCHM KIT	355 1	EGC156	GFHMCQVYPSGKWLVC HPR
353 6	EGC136	SKVYCPFQNPWFHCHIE LM	355 2	EGC157	EFYMCQVYPSLWVHC DKL
353 7	EGC138	PQVRCPFQNPWYSHCHM KLM	355 3	EGC158	FKERCPFQNPWYSRCME LI
353 8	EGC139	TQVRCPFQNPWWSHCHM EML	355 4	EGC159	SSVRCPFQNPWWSHCHM ELL
353 9	EGC140	KLMLCQVYPSLKWVHC EAS	355 5	EGC160	SEIRCPFKNPWYHCHMK LI
354 0	EGC141	NFLMCQVYPSYKWHVC VEQL	355 6	EGC161	SQVRCPFQNPWYTHCHM ELL
354 1	EGC142	RFLVCQVYPSLKWVHC EKS	355 7	EGC163	SQVYCPFHNPIWLHCHM ELM
354 2	EGC143	TFFICQVYPSGKWHVHC DTV	355 8	EGC164	KFILCQVYPSGKWHCHTE TL
354 3	EGC144	GFIMCQVYPSNWHVCL DRG	355 9	EGC165	NLLCKVYPSGKWHVCF APL

356 0	EGC166	KFQLCQVYPSEKWHICV VTL	357 6	EGC187	KFFLCQVYPSGKYHICVS TW
356 1	EGC167	NFYMCQVYPSELWHVCV ETL	357 7	EGC189	KFYMCQVYPSVRWHVC VDTS
356 2	EGC168	RFVMCQVYPSAKWHVC VETL	357 8	EGC191	TREICPFQNPWIRSHCLKL V
356 3	EGC169	TNIRCPFQNPWYSHICIAL T	357 9	EGC192	PMVRCPFKNPVWYSHCL ELL
356 4	EGC171	SPVRCPFQNPWYEHCMAL LI	358 0	EGC196	TFFMCQVYPSGKWHVCV GGL
356 5	EGC172	SAVRCPFHNPIWYSHCM KLL	358 1	EGC197	KFFLCQVYPSEKWHVCIE RL
356 6	EGC174	AQVRCPFQNPVWYSHCM DLI	358 2	EGC198	RYQMCQVYPSGKWHVC METI
356 7	EGC175	YFRMCQVYPSLKWHICV ETM	358 3	EGC199	RFQMCKVYPSEKWHVCV EIL
356 8	EGC176	GFFMCQVYPSEKWHVCL ETL	358 4	EGC222	WCTECMRRFPGHYCVAF C
356 9	EGC177	GFIMCQVYPSLKWHVCV ETS	358 5	EGC223	RAASCLDVFWCHSWC
357 0	EGC178	KFFMCQIYPSEKWHVCV KLW	358 6	EGC224	CLSRCVDWVFSNCTSGR
357 1	EGC181	AASLCPFQNPWLAHCME MM	358 7	EGC225	FLMLCHVSKYTIKCFSP
357 2	EGC182	SKVYCPFQNPWWSHCM ELI	358 8	EGC226	WALACSWTPRWQCIFS L
357 3	EGC183	SQAYCPFQNPWNNHCM ELI	358 9	EGC227	LERLCMEIFYVHCSGSI
357 4	EGC185	HLFLCQVYPSEKWHVCV ETL	359 0	EGC228	SWRMCIEMFLTHDECVR FV
357 5	EGC186	KFRMCQVYPSGKWHVC AETF	359 1	EGC229	SSVVCVRGIHAWTCHFFV

359 2	EGC232	LTSSCVYVYNWCAVWA	360 8	EGC253	KTGSCQAQKVFSWCAQ WC
359 3	EGC233	YRHLCVWLMEQCETAR	360 9	EGC254	KFFMCQVYPSLKWHVC METL
359 4	EGC234	RAASCLDVFHCRRSWS	361 0	EGC255	KFMMCQVYPSLKWHVC VETL
359 5	EGC236	HVSICWGYTYCWQIF	361 1	EGC256	VEHLCSKIPFWHVQCLAR F
359 6	EGC237	RGASCLDLFWCHSWG	361 2	EGC259	KFLMCQVYPSLKWHVC METL
359 7	EGC238	IYILCTNFKPVFWCVFST	361 3	EGC263	QFLMCQVYPSLKWHVCV ETL
359 8	EGC239	LWIRCSLLQYSYCSWV W	361 4	EGC264	QFMLCQVYPSKKWHVC VVPV
359 9	EGC242	SYLFCYTLYIDYNCWLW S	361 5	EGC265	GSCALKNRSKCARRG
360 0	EGC243	PGYRCVFQVNYQCGBAF	361 6	EGC266	KFQMCQVYPSGNWHVC VETM
360 1	EGC244	THIRCFWTFHMDFCVTVG V	361 7	EGC267	RERTCVYFHKILHDFCPS RT
360 2	EGC245	WLNCGCVVITCIVEPR	361 8	EGC268	FKFTCYWAPYHTFCNTG Q
360 3	EGC246	WGWRCYQSWSYQDCQY WY	361 9	EGC269	KFFMCQVYPSLKWHVW METL
360 4	EGC248	FLMLCRVSKYTIKCFSP	362 0	EGC270	KFQCARFTLPETGMFVSK L
360 5	EGC250	RGRDCLRSFPGHYCVTFR	362 1	EGC272	WYEQCMKRHHHPQAFCLR FN
360 6	EGC251	LNICWRWAHQVPWQC SLFQ	362 2	EGC273	KFLMCQVYPSKKWHVCI ETL
360 7	EGC252	ASYSCWWGPMYMECWT KV	362 3	EGC274	QFMLCQVYPSKKWHVC VVTV

362 4	EGC276	CLGSCMLKGFERWCIHG H	364 0	EGC466	TSEPYCPFLNPIWKAECIS RT
362 5	EGC277	KFFMCVDYPSLKWDVC METL	364 1	EGC467	SYEPYCPFLNPTWKEQCII RS
362 6	EGC278	RFFMCVDYPSIKWDVCPE TI	364 2	EGC468	LNOPYCPFMNPNWKAEC LARM
362 7	EGC280	PRWTCEWYQARQSCSLG Q	364 3	EGC469	SKGPYCPFLNPIWKDECI ARI
362 8	EGC281	KFHMCQVYPSRNWHVW VETL	364 4	EGC470	NSEPYCPFLNPIWKAECIA RT
362 9	EGC283	VEHLCSEIPFWNVQCLAR F	364 5	EGC471	QSKPYCPFLNPTWKAQCI ARS
363 0	EGC284	KLFLCQVYPSERWHVCV ESL	364 6	EGC472	TSTPYCPFLNPIWKAECLS RI
363 1	EGC285	HLIMCQVYPSGKWHVCL ATT	364 7	EGC474	ISEPYCPFMNPTWKEQCL ART
363 2	EGC286	AVELCFHHTQEWTYCLW RF	364 8	EGC476	VNDPYCPFLNPTWKAECI ART
363 3	EGC287	GEQLCSKIPSSDALWWV RLL	364 9	EGC488	SIEPYCPFLNPTWKAECL VRS
363 4	EGC288	DALRCFEWVKRNCLLSS	365 0	EGC489	VSEPYCPFLNPVWKDQC LSRI
363 5	EGC289	KFMMCQVYPSQKWHVC VETF	365 1	EGC490	LPPPCYWTTWGKECQMF D
363 6	EGC291	VEHLCSKIPFWHVQCLAR I	365 2	EGC491	KTEPYCPFLNPTWKAECI ART
363 7	EGC337	RYFYMCQVYPSERWQVC VGTS	365 3	EGC492	TSDPYCPFVNPIWYNECI ART
363 8	EGC453	SNLYLCQVYPSGKYHICI EAL	365 4	EGC494	TGSPYCPFLNPTWKAHCI ARL
363 9	EGC465	YSEPYCPFLNPTWKNECI ARS	365 5	EGC500	ASEPYCPFLNPTWKDQC MARL

365 6	EGC501	RSEPYCPFLNPTWKAQCI YRT	367 2	EGC528	LTEPYCPFLNPTWKDQCL ARR
365 7	EGC502	SIDPYCPFLNPTWLKECIA RS	367 3	EGC529	SKDPYCPFVNPIWKHECI VRS
365 8	EGC508	IGEPYCPFANPTWKQECI ART	367 4	EGC532	HSEPYCPFLNPIWKEQCM VRS
365 9	EGC511	WSEPYCPFLNPAWKDQC LART	367 5	EGC533	SSEPYCPFLNPTWKHECL LRT
366 0	EGC512	MREPYCPFLNPTWKDQCI AIR	367 6	EGC534	ESEPYCPFTNPTWKAQCI ARS
366 1	EGC514	YREPYCPFLNPIWKEQCI ARS	367 7	EGC535	YNEPYCPFINPIWKAECIA RT
366 2	EGC515	ISAPYCPFLNPIWKDECIA RT	367 8	EGC536	ISEPYCPFQNPNTWKFCCLI RS
366 3	EGC516	LREPYCPFLNPIWNVECL ARS	367 9	EGC538	RSEPYCPFLNPTWKEQCI ARQ
366 4	EGC517	SSEPYCPFHNPTWKDQCL ARS	368 0	EGC539	GRETYCPFLNPIWKAQCL ART
366 5	EGC518	DSEPYCPFLNPTWKDQCL ARF	368 1	EGC540	KSEPYCPFLNPIWKDQCI VRS
366 6	EGC519	NSEPYCPFLNPSWKASCI ARM	368 2	EGC541	VIEPYCPFLNPTWKDHCI ART
366 7	EGC522	TSEPYCPFLNPIWKDQCIA RT	368 3	EGC542	MSDPYCPFQNPPIWKAACI ART
366 8	EGC523	RSEPYCPFLNPIWKNECIA RS	368 4	EGC544	ESEPYCPFVNPIWKAECIA RH
366 9	EGC524	FSEPYCPFINPTWKAQCL ARI	368 5	EGC546	YNEPYCPFVNPTWKAAC VART
367 0	EGC525	LNEPYCPFLNPIWKDECL ART	368 6	EGC548	YSKPYCPFINPIWKEQCIA RH
367 1	EGC526	SREIYCPFLNPIWLAECIA RA	368 7	EGC554	LIEPYCPFLNPTWYDQCI ARS

368 8	EGC557	REVPYCPFLNPIWKEQCII RT	370 4	EGC589	LSGLYCPFLNPTWKDQCI ARM
368 9	EGC561	SLQAYCPFVNPTWKNEC LARI	370 5	EGC590	ISQPYCPFTNPTWLAECIA RS
369 0	EGC563	LSEAYCPFLNPTWKQHCI ALT	370 6	EGC592	LNTPYCPFINPTWKDECL ARS
369 1	EGC564	MSEPYCPFLNPTWKEQCL ARS	370 7	EGC594	YEEHCRLFPADWICSLQ
369 2	EGC565	LNEPYCPFLNPIWKNQCI ARL	370 8	EGC595	NSEPYCPFLNPSWKAQCI ARS
369 3	EGC566	PSKPYCPFLNPYKAE MSRS	370 9	EGC596	ADSWCHTLTYWNLRHCEI QE
369 4	EGC568	ISEPYCPFLNPTWKDACIA RS	371 0	EGC597	SSEPYCPFLNPTWKEQCI ART
369 5	EGC570	PDSWCHTLTYWDLLEYCVN QE	371 1	EGC599	DTKPYCPFLNPIWKNQCI ERT
369 6	EGC572	QGQPYCPFVNPIWYAEC MTRT	371 2	EGC600	TRDPYCPFLNPIWKDECF ART
369 7	EGC578	RPEPYCPFKNPWKEQCL ARY	371 3	EGC601	KEEAYCPFLNPLWKDEC VART
369 8	EGC579	SSEPYCPFINPTWKQECIA RT	371 4	EGC602	PESWCHTLTYWNLQHCLS QE
369 9	EGC582	TTEPYCPFLNPIWKDQCI ARW	371 5	EGC603	MSEPYCPFQNPPTWKHECI ART
370 0	EGC583	VSEPYCPFLNPYWKDQCI ARH	371 6	EGC604	DSDPYCPFVNPIWKAQCI ARS
370 1	EGC584	YNPYCPFLNPTWKDQC LARI	371 7	EGC605	YSEPYCPFVNPTWLDQCI ART
370 2	EGC585	RSEPYCPFYNPIWYDHC ALT	371 8	EGC606	YSEPYCPFLNPTWKAQC MAMI
370 3	EGC586	NPEPYCPFLNPIWKEQCIL RS	371 9	EGC608	LSEPYCPFLNPTWKAACL ARI

372 0	EGC609	IRKPYPFLNPTWYNECI QRS	373 6	EGC628	VSEPYCPFLNPTWKAHCI ELS
372 1	EGC610	QGEPYCPFLNPAWKDACI ERL	373 7	EGC629	SSDPYCPFLNPTWYDQCI ERY
372 2	EGC612	GSEPYCPFFNPIWKDQCIT RF	373 8	EGC630	ISDPYCPFVNPYWKAECI ART
372 3	EGC613	RSEPYCPFLNPTWKEHCI ART	373 9	EGC631	NIDPYCPFLNPTWKAECI ARI
372 4	EGC614	TNEPYCPFLNPTWKQQCI ART	374 0	EGC632	PREPYCPFLNPLWKNQCI ERT
372 5	EGC615	TSEPYCPFENPIWKAQCIS RS	374 1	EGC634	IRVPYCPFQNPTWYDQCI ART
372 6	EGC616	KSEPYCPFLNPYWKDQCI ARS	374 2	EGC635	PDSWCHTLYWHLQHCLS QE
372 7	EGC617	LREPYCPFLNPTWKAECI ARI	374 3	EGC636	TNDPYCPFLNPTWKAECI ARH
372 8	EGC619	TNDPYCPFLNPIWKAQCL DRY	374 4	EGC637	VSEPYCPFLNPTWKAQCL NRI
372 9	EGC620	KGQPYCPFLNPIWKEQCL ART	374 5	EGC638	PIDPYCPFLNPIWKEQCH ARS
373 0	EGC621	SSEAYCPFLNPTWKQECI ARL	374 6	EGC639	VREPYCPFLNPTWKNECI ART
373 1	EGC623	ANSWCHTLYWDLMYCV WQE	374 7	EGC640	LIEPYCPFLNPIWKDQCL ART
373 2	EGC624	TIEPYCPFLNPIWKDQCIA RS	374 8	EGC641	PKFFMCQVYPSGKWHVC TGTV
373 3	EGC625	QHEPYCPFLNPVWKHECI ART	374 9	EGC642	PKYYMCQIYPSLKWNVC LETL
373 4	EGC626	IREPYCPFLNPTWKAQCI ART	375 0	EGC644	LNFYICKLYPSANLHVCV DTL
373 5	EGC627	HSAPYCPFLNPIWKDECI ARS	375 1	EGC646	RSEPYCPFLNPVWKDQCI ARS

375 2	EGC647	SSEPYCPFLNPIWKYHCIA RS	376 8	EGC665	SKFFMCQVYPSEKWHVCI EPL
375 3	EGC648	PGSPYCPFLNPFWKEQCI VRT	376 9	EGC666	LKFYMCQVYPSGNWNV CTATQ
375 4	EGC649	YEEHCALFPTDWICTLH	377 0	EGC667	NSEPYCPFHNPTWKAAC MART
375 5	EGC651	FIEPYCPFINPTWKAECIA RT	377 1	EGC668	RSEPYCPFLNPIWKEQCI RT
375 6	EGC652	DKFYLCQIYPSEKWHVC VWSS	377 2	EGC669	SREPYCPFLNPTWKEQCI ARI
375 7	EGC653	EKFKMCQIYPSKNWAVC VETF	377 3	EGC671	MREPYCPFLNPSWKEQCI ARS
375 8	EGC654	HKFYMCQVYPSEKWHV CVETL	377 4	EGC672	LREPYCPFLNPVWKNCCI ART
375 9	EGC655	LSEPYCPFLNPSWKAECI ARS	377 5	EGC673	ITDTYCPFQNPWKAECIA RT
376 0	EGC656	LSEPYCPFLNPIWKEQCI RS	377 6	EGC674	FNFFMCQVYPSEKWHIC VKSL
376 1	EGC657	LSEPYCPFLNPTWKDQCI ARS	377 7	EGC675	KKFYMCQIYPSEKWHVC VERI
376 2	EGC658	RSEPYCPFVNPIWKAECI VRS	377 8	EGC676	TRYSMCQVYPSLRWHVC VENL
376 3	EGC659	QFEPYCPFLNPTWKEQCI ARI	377 9	EGC678	LGEPYCPFLNPTWKAQCL YMS
376 4	EGC660	PIEPYCPFQNPWKAQCI ART	378 0	EGC679	SSEPYCPFLNPIWKEQCL ARQ
376 5	EGC661	YRQPYCPFLNPTWKAQC MART	378 1	EGC680	RSEPYCPFLNPIWKEHCIN RS
376 6	EGC663	DNFYMCQVYPSLKWHIC VSIL	378 2	EGC681	HSQPYCPFQNPWYEQCI ART
376 7	EGC664	SMFFMCQVYPSEKWHVC VYPL	378 3	EGC682	SNEPYCPFLNPSWKDACL QRT

378 4	EGC683	LSDVYCPFVNPTWKAECI ARS	380 0	EGC703	ARQPYCPFLNPTWKNEC MARS
378 5	EGC684	SDFMCQVYPSQKWHVC VKSL	380 1	EGC704	PSEPYCPFLNPIWKAECIA RT
378 6	EGC686	PDSWCHTLYWSSLHCAR QE	380 2	EGC705	IAILTALSLTSLGRTSASSE
378 7	EGC687	LPFFMCQVYPSKSWHVC VETS	380 3	EGC706	YSAPDCPFVNPIWKNACI ARY
378 8	EGC688	LSEPYCPFQNPTWKEQCV ARS	380 4	EGC707	ADSWCHTLFWQLQHCV WQE
378 9	EGC689	ADSWCHTLFWNLKHCLI QE	380 5	EGC708	LNFSMCQVYPSYKWHVC VGTL
379 0	EGC690	GGDPYCPFLNPTWKAECI ART	380 6	EGC709	MEFFMCQVYPSEKWHVC VAKL
379 1	EGC691	VREPYCPFLNPIWKDQCI ART	380 7	EGC710	LRYIICQIYPSEKYHVCV DTL
379 2	EGC692	ASEPYCPFLNPIWKDQCI ART	380 8	EGC711	VIEPYCPFLNPTWKAECI ARS
379 3	EGC693	SSEPYCPFQNPTWKDQCI ARN	380 9	EGC712	STEPYCPFLNPIWKDACIA RH
379 4	EGC694	ADSWCHTLYWNLLYCA NQE	381 0	EGC715	WRDPYCPFLNPIWKEQCI ARY
379 5	EGC696	SWFFMCQIYPSLKWHVC VETL	381 1	EGC716	RSEPYCPFLNPTWKDQC MART
379 6	EGC698	STFYMCKVYPSQRWHVC VDTL	381 2	EGC717	VIDPYCPFLNPIWKEQCQ VRT
379 7	EGC700	SREPYCPFLNPTWYDECI ART	381 3	EGC718	SKFFMCQVYPSKKWHVC VEAL
379 8	EGC701	QSEPYCPFLNPMWKEQCI VRI	381 4	EGC719	IKFFMCQVYPSSELWHVC VQKQ
379 9	EGC702	TSEPYCPFDNPTWKARCL AML	381 5	EGC720	TTFFMCQLYPSGNWHVC TETL

381 6	EGC721	FKFFMCQTYPSEKWHVC VEKL	383 2	EGC763	DQVRCPFQNPVWWSHC MYLL
381 7	EGC722	SSEPYCPFLNPLWHEQCL ARI	383 3	EGC764	DQVRCPFQNPVWWSHC MYLL
381 8	EGC723	AREPYCPFLNPIWKAECV ARY	383 4	EGC765	TDSWCHTLYWQLHHCAI LE
381 9	EGC724	PSEPYCPFVNPTWLDECI ARS	383 5	EGC770	DQVRCPFQNPVWWSHC MYLL
382 0	EGC725	ASEPYCPFLNPIWYEQCIN RT	383 6	EGC771	YQVTCFPLNPPWWSHCM YLL
382 1	EGC726	PISPYCPFLNPIWYEECIA RS	383 7	EGC772	DQVRCPFQNPVWWSHC MYLL
382 2	EGC727	VGEPYCPFMNPIWKEQCI LRS	383 8	EGC776	HRAPCFSTACRQPCFSL T
382 3	EGC729	ADSWCHTLYWQLLHCV NQE	383 9	EGC777	YQVTCFFNPLWWSHCM YLL
382 4	EGC736	ADSWCHTLYWQLLHCVS QE	384 0	EGC783	SEPYCPFLNPTWKSQCIA RT
382 5	EGC737	DQVRCPFQNPVWWSHC MYLL	384 1	EGC789	YEVQCPFQNPVWWSHCM DLI
382 6	EGC745	DQVRCPFQNPVWWSHC MYLL	384 2	EGC791	ESCWTWDHWYQYWVPQ RCDP
382 7	EGC746	DQVRCPFQNPVWWSHC MYLL	384 3	EGC792	ANSWCHTLYWQLHHCEI LE
382 8	EGC752	YTKHCQRLPTYKICNLFM	384 4	EGC793	QACNFTSLGWYQEFYCL R
382 9	EGC754	DQVRCPFQNPVWWSHC MYLL	384 5	EGC794	WACRWEWHAAWQKWD EFCVE
383 0	EGC755	ADSWCHTLYWQLQHCLS QE	384 6	EGC795	AYCYRSIISRNSTCSAL
383 1	EGC759	DQVRCPFQNPVWWSHC MYLL	384 7	EGC796	VYCFLNFKTMNYAGEFW CRH

384 8	EGC797	SWCMWYYESTYSAPYY YCSV	386 4	EGC822	WSYSCVFLPWMYHMCY LET
384 9	EGC798	SQCHWWHEPYGMFQTEI CLW	386 5	EGC823	WFYQCWQSPWHTECSW VN
385 0	EGC799	GLHGCQYVQMFFHFCAP KT	386 6	EGC824	RDQPCWYKIMTGCLCMP
385 1	EGC800	WQHVCWQDWYSWVCTS GY	386 7	EGC825	LPPSWCVRGECSWLLL
385 2	EGC801	PWRGCWWDPWQPWDC VPFF	386 8	EGC826	DESDCKQLPICHGHCLVP L
385 3	EGC802	QERLCRQIWQHVCVRYM	386 9	EGC827	YQVFCEWSYWEYHCISN Q
385 4	EGC803	QPRECNYVPAWYCHYYS	387 0	EGC828	VQHHCLYRQHSYRECVR HY
385 5	EGC804	VYQYHCDWYTCLFRHT	387 1	EGC829	YIDCVPLPGFYLPQLG
385 6	EGC806	FQGHCALFPTDWICTLKS	387 2	EGC831	WHQACEYQYYNWECSM GW
385 7	EGC807	QMCHMEWHNHVYWQV CHW	387 3	EGC832	ETFSCYVFPFFYECYSTP
385 8	EGC808	WMRQCHLETECQRAS	387 4	EGC836	WTNLFCWGPLCKCLQQ
385 9	EGC809	SAVACFHPPYFFICVASG	387 5	EGC839	YQVMCLHQPFVSFCHYE T
386 0	EGC810	LRRRCHSRFMQCSNPG	387 6	EGC840	GTHWCRYYPYAECYV WL
386 1	EGC811	GQTWCHWGMYCISTT	387 7	EGC841	TWLCDCSYWGCWWELG
386 2	EGC818	WEYQCEWGYSYKPQCW LSA	387 8	EGC842	LWVGCYIPPWTEWCPIA W
386 3	EGC820	LPLTCWVLEWHEWLACV SYD	387 9	EGC844	VWLMCWHYIFCPSKL

388 0	EGC845	PEYLCWVYPYAPQCWDL V	389 6	EGC869	ARDPYCPFQNPIWYNECI ART
388 1	EGC846	VEHLCSKIPFWMFSAWP G	389 7	EGC870	PREPYCPFHNPWKAAC VARA
388 2	EGC849	ICEACPKHVSEQCIRLR	389 8	EGC871	TNESYCPFLNPTWKAEC MARI
388 3	EGC851	WRVICMARPTGEQCEWV W	389 9	EGC872	DREPYCPFLNPNYWKDQC LART
388 4	EGC854	DWSKCIQFSLPHDHCLMF M	390 0	EGC873	ISDPYCPFVNPIWKEQCI RN
388 5	EGC856	SRWECAWIVGYHHWDC RWLF	390 1	EGC874	RNEPYCPFVNPIWKEQCII RT
388 6	EGC857	SMEYCFWYHYCQLGV	390 2	EGC875	LTPYCPFENPTWKAQCI ART
388 7	EGC858	IFVMCEDSWVPFCFSNR	390 3	EGC876	SIEPYCPFLNPTWLEQCI RS
388 8	EGC859	VEWMCYAYPFDPECYYN W	390 4	EGC877	KSEPYCPFLNPTWHDQCI ARN
388 9	EGC861	DEHLCSISRSGMSFAWAG	390 5	EGC878	IIGPYCPFLNPEWKDQCM ART
389 0	EGC862	ASEPYCPFLNPVWKEQCI ARL	390 6	EGC879	YREPYCPFQNPYWKDQCI ARY
389 1	EGC863	PREPYCPFHNPWKNQCI ART	390 7	EGC880	AIEPYCPFLNPIWKDQCL ARI
389 2	EGC865	ESEPYCPFLNPIWKAHCIA RT	390 8	EGC881	MSRPYCPFLNPIWKEQCI ART
389 3	EGC866	DSEPYCPFLNPIWKEQCL ARM	390 9	EGC882	YNKPYCPFQNPTWKEAC LARS
389 4	EGC867	TSDPYCPFLNPTWKAECI ART	391 0	EGC883	SSEPYCPFLNPTWKAECI ARS
389 5	EGC868	WSEPYCPFTNPTWKAACI ARS	391 1	EGC884	LSEPYCPFQNPIWKDKCI AMS

391 2	EGC885	SYEPYCPFLNPTWKAECI ARI	392 8	EGC902	FTEPYCPFLNPTWKAECIA RS
391 3	EGC886	GSEPYCPFLNPTWKEQCII RT	392 9	EGC903	TSEPYCPFLNPIWKEQCIT RT
391 4	EGC888	SSEPYCPFLNPTWKSQCI ARS	393 0	EGC904	VEPYCPFLNPTWKDACL ART
391 5	EGC889	RSEPYCPFLNPIWKDHCI ART	393 1	EGC905	TSEPYCPFGNPIWKKECIA RT
391 6	EGC890	RSEPYCPFLNPTWKAECI ARS	393 2	EGC906	TSEPYCPFLNPTWKDECI ARM
391 7	EGC891	SREPYCPFLNPIWKDKCIS RT	393 3	EGC907	SNEPYCPFLNPTWKAQCL ARM
391 8	EGC892	TSDPYCPFLNPIWKEQCIV RT	393 4	EGC908	YREPYCPFLNPTWKEQCI ARS
391 9	EGC893	EREPYCPFLNPTWKEQCL ARH	393 5	EGC909	LNAPYCPFLNPNWYDQCI HRS
392 0	EGC894	LREPYCPFLNPTWKAECI ARS	393 6	EGC910	SSDPYCPFLNPTWKQQCI ERS
392 1	EGC895	GSEPYCPFLNPTWKEQCL ARL	393 7	EGC911	ASEPYCPFLNPTWKEQCI ART
392 2	EGC896	MSEPYCPFLNPIWKEQCI ARS	393 8	EGC912	LSEPYCPFQNPTWYDECI SRS
392 3	EGC897	RGEPYCPFTNPIWKEQCI NRS	393 9	EGC913	SSEPYCPFLNPKWKHECI ARS
392 4	EGC898	DADPYCPFLNPTWKAEC LARS	394 0	EGC914	GSEPYCPFLNPIWKAECIA RS
392 5	EGC899	RGEPYCPFLNPAWKNEC LART	394 1	EGC915	RIEPYCPFVNPTWKDQCL ART
392 6	EGC900	IIEPYCPFVNPWNKAQCIA RS	394 2	EGC916	SIEPYCPFLNPTWKEQCIA RS
392 7	EGC901	EDEPYCPFLNPIWKAQCL ART	394 3	EGC917	RTEPYCPFLNPTWKEQCI ARS

394 4	EGC918	PSEPYCPFLNPTWKDQCL QRS	396 0	EGC934	FGEPYCPFLNPTWKAACL VRS
394 5	EGC919	YSEPYCPFLNPTWKAECI ART	396 1	EGC935	LREPYCPFLNPTWKEQCL VRT
394 6	EGC920	TSEPYCPFLNPTWKEHCM ART	396 2	EGC936	STDPYCPFLNPVWNYQCI ART
394 7	EGC921	GSNPYCPFLNPIWKEACL ART	396 3	EGC937	SHEPYCPFQNPWKAACL ART
394 8	EGC922	INEPYCPFQNPFWYAECL ART	396 4	EGC938	LNDPYCPFLNPIWKEQCM SRY
394 9	EGC923	TREPYCPFLNPTWLDQCI ART	396 5	EGC939	GYAPYCPFLNPIWKECI TRT
395 0	EGC924	IREPYCPFLNPSWKAECIA RS	396 6	EGC940	FSEPYCPFVNPYWKEQCI ART
395 1	EGC925	ASEPYCPFINPTWKDECIA RS	396 7	EGC941	HTEPYCPFLNPTWKEQCL ARF
395 2	EGC926	HSEPYCPFLNPTWKEQCI ARS	396 8	EGC942	GYEPYCPFLNPIWKAECK ARS
395 3	EGC927	MKEPYCPFLNPTWKAQCI ART	396 9	EGC944	LREAYCPFINPIWKDQCM ARI
395 4	EGC928	TDETYCPFKNPIWYEECI ARS	397 0	EGC945	LIEPYCPFLNPHWKAECI ARY
395 5	EGC929	RGEPYCPFKNPTWKYQC LART	397 1	EGC946	SSEPYCPFINPMWKDQCL ART
395 6	EGC930	IREPYCPFLNPIWKAHCIA LT	397 2	EGC947	PSDPYCPFLNPSWKAACL ART
395 7	EGC931	VSEPYCPFMNPIWKAACL SRT	397 3	EGC948	SSEPYCPFLNPIWKAECIA RA
395 8	EGC932	EREPYCPFLNPIWLEQCLS RT	397 4	EGC949	FPEPYCPFLNPHWKAQCL ERL
395 9	EGC933	YSEPYCPFLNPIWKEQCIA RT	397 5	EGC950	FREPYCPFLNPTWKQQCL ARI

397 6	EGC951	PREPYCPFLNPIWKDECIA RT	399 2	EGC968	QNDPYCPFLNPIWKAQCI ARS
397 7	EGC952	MSDPYCPFLNPTWKAQCI ART	399 3	EGC969	SSEPYCPFLNPNYWKEQCI ART
397 8	EGC954	NSEPYCPFSNPTWKDECL IRS	399 4	EGC970	YREPYCPFLNPNYWKDQC MART
397 9	EGC955	LREPYCPFLNPTWKEQCI ARY	399 5	EGC972	MHEPYCPFINPTWYEQCL ARS
398 0	EGC956	HNKTYCPFLNPTWKAQCI ART	399 6	EGC973	QLKPYCPFLNPIWYDQCV SRT
398 1	EGC957	IGEPYCPFLNPTWKEECIR RT	399 7	EGC974	SSEPYCPFLNPSWKDQCI ARL
398 2	EGC958	ISEPYCPFINPTWKAECIA RS	399 8	EGC975	YIDPYCPFLNPTWKDACL ARS
398 3	EGC959	TKAPYCPFKNPIWKAECI ART	399 9	EGC976	SSEHYCPFVNPAWKEACI ARY
398 4	EGC960	PGDPYCPFLNPIWKQECI VRN	400 0	EGC977	QSEPYCPFVNPTWKNECI ARY
398 5	EGC961	STEPYCPFSNPTWKAQCI ARI	400 1	EGC978	LSDPYCPFLNPIWKDQCI ART
398 6	EGC962	RSEPYCPFLNPTWKDQCI ARS	400 2	EGC979	LGEPYCPFINPTWKAECCL ART
398 7	EGC963	SSEPYCPFLNPIWKEHCIA RT	400 3	EGC980	YGDYCPFLNPTWKENCIC ART
398 8	EGC964	YREPYCPFLNPIWKEQCI ART	400 4	EGC981	LTEPYCPFLNPTWKDECL ART
398 9	EGC965	HSEPYCPFVNPTWYNECI SRT	400 5	EGC982	FREPYCPFKNPTWLAQCI ARS
399 0	EGC966	RSEPYCPFLNPIWKDQCI ARS	400 6	EGC983	ANEPYCPFLNPHWKGQC VLRS
399 1	EGC967	VNEPYCPFLNPKWYAEC LART	400 7	EGC984	LNEPYCPFNNPTWKEECI KRS

400 8	EGC985	QSEPYCPFLNPTWYTECV ART	402 4	EGC100 3	IGEPYCPFLNPTWKDQCL VRS
400 9	EGC986	SSQPYCPFLNPTWKDACL ART	402 5	EGC100 4	SSVPYCPFKNPTWKAECI ART
401 0	EGC988	SHEPYCPFLNPEWKAECI ARN	402 6	EGC100 5	YREPYCPFLNPLWKDECI ART
401 1	EGC989	ASDPYCPFLNPIWKDQCI LRS	402 7	EGC100 6	HSEPYCPFLNPTWKDECI TRT
401 2	EGC990	DNDPYCPFLNPTWKEEC VARS	402 8	EGC100 7	YSDPYCPFLNPSWYDECV SRM
401 3	EGC991	ESEPYCPFVNPIWKDQCM ARY	402 9	EGC100 8	YREPYCPFLNPTWYVECI ARS
401 4	EGC992	LSAPYCPFLNPTWKDQCL ART	403 0	EGC100 9	HREPYCPFLNPAWKEQC LVRS
401 5	EGC993	SSEPYCPFLNPIWKQACY DRT	403 1	EGC101 0	ASEPYCPFLNPTWRDACL ART
401 6	EGC994	VDEPYCPFLNPNWKEACI ARS	403 2	EGC101 1	LREPYCPFLNPTWKEQCI ARS
401 7	EGC995	LIEPYCPFLNPTWKEQCF VRS	403 3	EGC101 2	SSEPYCPFLNPTWYNECI YRI
401 8	EGC996	NDEPYCPFLNPIWKAQCL ARN	403 4	EGC101 3	LREPYCPFENPIWKEKCI IT
401 9	EGC997	AGKPYCPFLNPSWYDECI RRL	403 5	EGC101 4	PSEPYCPFLNPTWKAECI ART
402 0	EGC998	LSEPYCPFLNPIWKDQCM IRS	403 6	EGC101 5	ATEPYCPFLNPIWKAQCI ERM
402 1	EGC999	STEPYCPFLNPTWKDQCI ARI	403 7	EGC101 6	LGEPYCPFLNPTWKLQCL ART
402 2	EGC100 0	PREPYCPFLNPVWKAQCI ARW	403 8	EGC101 7	ATEPYCPFLNPVWKDQCI LRT
402 3	EGC100 1	ISAPYCPFKNPIWKAECIA RS	403 9	EGC101 8	PIEPYCPFINPMWKAECIA RT

404 0	EGC101 9	GREPYCPFLNPVWYNEC MVRF	405 6	EGC103 6	GYCFLFYKFPQYHMQCII
404 1	EGC102 0	VIEPYCPFLNPIWKEQCI RS	405 7	EGC103 7	KECLFTVPGVQHPVMWY CLT
404 2	EGC102 1	TIEPYCPFLNPTWYKECL LRS	405 8	EGC103 9	LLCRGQTANNLQPDECLT
404 3	EGC102 2	LGEPYCPFLNPTWKDQCT ARS	405 9	EGC104 0	TCCRDIWWMYRFLYTQCG M
404 4	EGC102 4	LNEPYCPFLNPIWKAQCI ART	406 0	EGC104 1	SFHRCFEWVRHNCVWGA
404 5	EGC102 5	WSEPYCPFLNPTWKAECI ART	406 1	EGC104 2	ETLACAKLMPWYNECLA RF
404 6	EGC102 6	ASEPYCPFWNPIWKAQCI ARI	406 2	EGC104 3	RYCDHFVNHHDYKLCCL T
404 7	EGC102 7	ISEPYCPFVNPTWKAQCI ART	406 3	EGC104 4	WQCEWQWVQEWGAWD KFCVM
404 8	EGC102 8	VIEPYCPFVNPTWKEQCI LRS	406 4	EGC104 5	LERLCIEIWSYHCRSFL
404 9	EGC102 9	MSCDEAWYNEQTLWLC VT	406 5	EGC104 6	LATWCQRWLASACFGLF
405 0	EGC103 0	WQCEWQWVQEWGAWD EFCVM	406 6	EGC104 7	GWCFEYYPEVSRFVYSD CNS
405 1	EGC103 1	GYCATDYWDYNGVWGT YCTQ	406 7	EGC104 9	YQVKCPFQNPVWTHC MYLL
405 2	EGC103 2	RYCYLFEKYAPFYDQCLL	406 8	EGC105 0	WHCQFWVWPEWGAWD EFCVM
405 3	EGC103 3	RYCYLFQKYAPFYDQCL L	406 9	EGC105 1	STCLLQYYQFDVFSKKFC PL
405 4	EGC103 4	GCCYWWGLVYDKWIKC ET	407 0	EGC105 2	WHCEWHWVQEWGAWD EFCVM
405 5	EGC103 5	YQVKCPFQNPVWWSHC MYLL	407 1	EGC105 3	PKVRCPFQNPVWWSHC EIL

407 2	EGC105 6	SVCHKMWPIIDDLYYCLR			AGGSYMHEPHMQVLEIM N
407 3	EGC105 7	SLCQHFQQPVWYQACI R			
407 4	EGC105 8	YQVRCPFQNPVWWSHC MYLL			
407 5	EGC105 9	GYCFLFYKFPQYHMQCIS			
407 6	EGC106 0	LLCRGQSANNLQRDECL R			
407 7	EGC106 3	WHCQWFWVHEWGAWN EFCVM			
407 8	EGC106 6	WQCEWEWVQEWGAWD EFCVM			
407 9	EGC107 0	DQVKCPFQNPVWWSHC MYLL			
408 0	EGC107 2	WHCEWQWVQEWGAWD EFCVM			
408 1	EGC107 3	PKVRCPFQNPVWWSHCM KIL			
408 2	EGC107 4	GRCRGYEVDPPWHAPCF CDL			
408 3	EGC107 5	ILCQHFQQPVWYQACIR			
408 4	EGC108 2	WNEPYCPFLNPTWKAQC IARI			
408 5	EGC108 3	LGEPYCPFLNPFWDQCI ARN			
408 6	EGC108 4	LGEPYCPFLNPYWDQC MSRT			
408 7	EGC108 5	ASSETYCPFLNPYWDQ CMSRTSGGGSQAA			

Связывающие ErbB4 домены MRD

SE	Иденти	Пептидная	410	EGD14	FPFSCVMRPHVIECLLSG
Q	фикации	последовательность	8		
ID:	онный		410	EGD15	ADGHCWMYQDWMCLY
	номер		9		LM
409	EGD1	HPWRCLKKPEVVQCLRTG	411	EGD16	EQLNCQEKIQYWCTRIY
5			0		
409	EGD2	GIFACVKEPEVVKCLISW	411	EGD17	AYADWCSCINASSWT
6			1		
409	EGD3	HPWRCLEPEVVQCLRTG	411	EGD18	AYTDWCSWHRCVQLDS
7			2		
409	EGD4	EERLCYTPEAIFVDCTLHF	411	EGD19	YLIMCKEFPWSFTCGTLY
8			3		
409	EGD5	SRADWCDWHKCVVLQW	411	EGD20	DNSGCNAPTFVCGFLW
9			4		
410	EGD6	AYADWC SWHQC VQLDS	411	EGD21	SPFLCVHDFQVIECLIRW
0			5		
410	EGD7	SVLVCW MYDQC VSVS	411	EGD22	QDNCCFIIDNCQSGF
1			6		
410	EGD8	HRWRCLIEPEVVQCLRTG	411	EGD23	SVGRCF SHMPYHVSCSVS
2			7		V
410	EGD9	ADGHCW MY YEDWMCLY	411	EGD24	GWPPCADWMDQQLCSSA
3		LM	8		L
410	EGD10	SGWHCWVDYFCTRVE	411	EGD25	LKYRCVIYFHCYGWM
4			9		
410	EGD11	VGAFLCPFEYWYQDCTRR	412	EGD26	SQNVCLHLPWGWECFAW
5		L	0		P
410	EGD12	PVETCMNYYEDIICRFLV	412	EGD27	KPWRTCFNHGCELSLR
6			1		
410	EGD13	WKDFCPDVPPWLACTGSS	412	EGD28	SRADWCDWXNASSCS
7			2		
412	EGD30	ADGHCW MY YEYWMCLY	412	EGD29	EGPPCYDWWTSSCARVR
4		LM	3		

Связывающие DR5 домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикации онный номер	Пептидная последовательность	413 8	DR517	RVSECFLYLCHKGQ
			413 9	DR518	PTRECTVILTQHCWNVW
412 5	DR51	VSDTCMVIMTCRYSP	414 0	DR519	LTPCQPIMTCKRPV
			414 1	DR520	SPSPCKVIMTCAPLN
412 6	DR52	SERICFKIYMTSKNTCQKAS	414 2	DR521	ARHPHEPPYLCMKCL
412 7	DR54	ALRPCLVYMSMKCSVTW	414 3	DR523	ANDRCIPIMHWHCWAYW
412 8	DR55	SLTPCVYLTMCAPGH	414 4	DR524	VQGGCDLVILTCKMWG
412 9	DR57	DVGECRVIMTCRPSS	414 5	DR525	LRDFCSTTMAHQCHFGP
413 0	DR58	QQGCKIYMTCRYSH	414 6	DR526	AKGECQVYLTCRYNS
413 1	DR59	QWQVCYWTEGRWADSCGWAQ	414 7	DR527	GSEGCKVILTMKCPDRI
413 2	DR510	SVYPCKVIMTCLRSP	414 8	DR528	EYVECGPHQYYWFGHCHFWA
413 3	DR512	TGNICKRPVLTCNWSG	414 9	DR529	KCNFNPWKAACG
413 4	DR513	TEFGCQVYMTCRPKL	415 0	DR530	YAERCKVYLTMKCDISQ
413 5	DR514	SVYPCKVIMTCLKSP	415 1	DR531	PSEMCVVVMRNYCWSST
413 6	DR515	NFRMCIPIMTMHCWADD	415 2	DR533	LSSGCMVYMTMKCGSTK
413 7	DR516	DQYTCDRVILTCWTPH	415 3	DR534	VGADCWVIMTCRKNL

415 4	DR535	ATTPCMVYMTCFRTP	417 0	DR557	RDSECFIYLTCRVLP
415 5	DR537	QDRACFPIMTLHCPGEG	417 1	DR558	SAEDCFVILTCLCSR
415 6	DR539	QTRNCGVWP NHLVCMPL S	417 2	DR559	DRYPCYFYLTICIPAS
415 7	DR540	LQKVCAAWYYCMESH	417 3	DR561	LQSECFVIMTCKRVN
415 8	DR541	LRANCKVV LTERCGNYL	417 4	DR562	NTKPCMPIMTCLKWN
415 9	DR542	ADEACL VVLT CRASP	417 5	DR563	WNTPCMVIMTCRPHE
416 0	DR543	SGLGCPQNHLLV LTCRHA M	417 6	DR564	PLTKCKVIMTCARGI
416 1	DR544	WIAGCKLV LTERCLNYF	417 7	DR565	WHYPCQPVLTCRSHN
416 2	DR545	NNSQCQVILTHRCHSLT	417 8	DR566	FQTECLVYMTCRTIY
416 3	DR548	KVSVCFPILTMYCSERY	417 9	DR568	WESPCFIKLTCHMVA
416 4	DR550	NDLMCQPIMTMKCARYQ	418 0	DR569	FVGHCWWPLGLCAPLP
416 5	DR551	ILIFCQTPPHCLSKL	418 1	DR570	SSMSCVEYQQCRLGY
416 6	DR552	SYQRCKVIMTQKCIVPP	418 2	DR571	ARDSCLVYMTCRPVA
416 7	DR553	TSDRCVVVLT CRMWG	418 3	DR573	LNASCMVYLTQRCSHTS
416 8	DR554	HVSRCEPV LTMHCWRGS	418 4	DR574	RHDGCNKIMLTCHTRA
416 9	DR555	PSYPCS IILTCRSTL	418 5	DR575	HRDPCTVV LTCRSL S

418 6	DR576	MTSECQKVILTCWNAS	420 2	DR598	PPLGCTRIALTCWDIR
418 7	DR577	YMSVCHIDGHQVVCLKN K	420 3	DR599	QPPECRVIMTLRCGDAW
418 8	DR580	SGDTCLVILTHRCATVS	420 4	DR510 0	PKQACKIIMTERCWAVD
418 9	DR581	YTAPCKVYMTCVRPM	420 5	DR510 1	TVGECMPIMTCFSTN
419 0	DR582	LRANCKVVILTERCCNYL	420 6	DR510 2	WHYPCQPVLTCRSHT
419 1	DR583	PPSSCQVILTCRPIW	420 7	DR510 4	PLTKCKVIMTCAWGI
419 2	DR584	LSTRCTDQDIVLTCRIKD	420 8	DR510 5	GISGCKLVLTQRCLHVN
419 3	DR586	WHYPCQPVLTCRSRT	420 9	DR510 7	ERQGCVVYLTERRCVVGR
419 4	DR588	GQTDCMIIMTCKQWK	421 0	DR510 9	NNSQCQVILTHHCHSLT
419 5	DR589	PATRCEPVLRFHCWGQG	421 1	DR511 0	DKSPCQVVMTCRPLL
419 6	DR590	DSFGCTWEVWGREHPQ L	421 2	DR511 1	ALHKCMVILTNRCEPVP
419 7	DR591	FYLYCPYPEMSSHCVLRA	421 3	DR511 2	TTTCKLYLTSTCSPNH
419 8	DR592	LRADCKVVILTERCSNYL	421 4	DR511 3	TEYPCKVYMTCMWPI
419 9	DR595	HENPCQVYMTCRHLD	421 5	DR511 4	LGPNCIVLTERCGNSL
420 0	DR596	SAEECFVILTCLGSR	421 6	DR511 5	SERPCGERPVVMTCFPVR
420 1	DR597	ARQDCVPVMRWHCWAEI	421 7	DR511 6	GSFSMRWDCGDNPIPGRR QCVIM

421 8	DR511 7	GSAQLLWDCGDNPIMGRR QCVKL	423 4	DR513 3	GSSMITRPCAEEDVIMTCK WLPI
421 9	DR511 8	GSYTHTFDCGDFNITGRR QCVKL	423 5	DR513 4	GSGYNPRLCSEQDVIMTC RLRFG
422 0	DR511 9	GSLSSQFDCGENPILGRRQ CLYL	423 6	DR513 5	GSFDRNWDCGDNPIKGRR QCVKV
422 1	DR512 0	GSRAQIWDCGDNPIRGQR QCVKL	423 7	DR513 6	GSTYMQFDCGDNPIPGRR QCVPL
422 2	DR512 1	GSIHIPRCTEEDVIMTCRR SAD	423 8	DR513 7	GSFVSHWDCGENPIIGRRQ CVLL
422 3	DR512 2	GSSTFPRFCAEEDVIMTCR WRFD	423 9	DR513 8	GSPPHSRPCAEDVIMTCR YRIY
422 4	DR512 3	GSNAIPRHCTEEDVIMTCR LRPS	424 0	DR513 9	GSLDRPRPCAEDVIMTCR WRAA
422 5	DR512 4	GSAEFHRPCGEEDVIMTC RWRVH	424 1	DR514 0	GSWKWSPTCAEDVIMTC RKHVK
422 6	DR512 5	GSNALPRACDERDVIMTC RKSV A	424 2	DR514 1	GSKSVPRLCSEEDVIMTCK RGVF
422 7	DR512 6	GSYDFPRTCAEEDVIMTC KWRIS	424 3	DR514 2	GSEYWQPPCAEDVIMTC KWRVV
422 8	DR512 7	GSIPSRFDCGENPIAGRRQ CVEL	424 4	DR514 3	GSLCLPRHCAENEVIMTC RPLMF
422 9	DR512 8	GSQYIHMDCFENRIRGYC HCIKM	424 5	DR514 4	GSLMSQWDCGDNPILGRR QCVKL
423 0	DR512 9	GSILIPRTCAQEDVIMTCR ERAY	424 6	DR514 5	GSFKTIWDCGDNPIPGRR MCVKL
423 1	DR513 0	GSQGLPRPCGEEDVIMTC RWSGY	424 7	DR514 6	GSSSITWDCGDNPIPGRRQ CVIH
423 2	DR513 1	GSDFSFRCTCTEDAVIMTCK WRVL	424 8	DR514 7	GSPRFKWDCGDNPIAGRR QCVLL
423 3	DR513 2	GSDPSPRTCAEEDVIMTCR WQVY	424 9	DR514 8	GSSGFPHHCGEEDVIMTC RWRGL

425 0	DR514 9	GSPHFPRPCAEEDVIMTCR WRVI	426 6	DR516 5	GSADPLWDCGDNPIKGRR QCVPL
425 1	DR515 0	GSGWHTRFCAEEDVIMTC KWRVI	426 7	DR516 6	GSLPHAWDCGDNPIPGRR QCVKL
425 2	DR515 1	GSDHWRRSCSEDDVIMTC RWRVS	426 8	DR516 7	GSTKLTHPCGEEDVIMTC RWRVA
425 3	DR515 2	GSFKVPHLCAEEDVIMTC RWRVY	426 9	DR516 8	GSTASPRHCAEHDVIMTC RWPVD
425 4	DR515 3	GSRSSPHPCGEEDVIMTCR WRIT	427 0	DR516 9	GSERLARSCDEDDVIMTC RWRVT
425 5	DR515 4	GSVLQVCDCLDIPVFGTC QCVQL	427 1	DR517 0	GSNKPPRPCSEEDVIMTCR WRVV
425 6	DR515 5	GSGDSHWDCGDNPILGRR QCVKL	427 2	DR517 1	QGSDEWDCLDNRIGRRQC VKL
425 7	DR515 6	GSTSMWDCGANPIKGRR QCVLL	427 3	DR517 2	GSSLSSWDCGDNPIPGRRQ CVKL
425 8	DR515 7	GSMPYSWDCGDNPIVGRR QCVKV	427 4	DR517 3	GSPSEYWDCGDNPIFGRR QCVRL
425 9	DR515 8	GSFTSRWDCGNNLVIGQR QCIKL	427 5	DR517 4	GSLSPWDCGDNPILGRR QCVLL
426 0	DR515 9	GSSAPGFDCGDNPIVGQR QCIKL	427 6	DR517 5	GSAAHYWDCGDNPIVGR RQCVKL
426 1	DR516 0	GSMVGQRPCAEEDVIMTC RWRVV	427 7	DR517 6	GSYLYPRPCSEEDVIMTCR WRVS
426 2	DR516 1	GSSLLPRNCSEEDVIMTCR WRVD	427 8	DR517 7	GSSSFTPTCNEEDVIMTCR WRVV
426 3	DR516 2	GSGTTPRRCAEEDVIMTC RWSAH	427 9	DR517 8	GSLSAPPTCAEEDVIMTCR WRLK
426 4	DR516 3	GSSYSRPRCAEEDVIMTCR PRFH	428 0	DR517 9	GSRNFPVPCDES DVIMTCK WRVS
426 5	DR516 4	GSGVFPRPCHEEDVIMTCR WRVH	428 1	DR518 0	GSDRFQRHCSEADVIMTC KSRLY

428	DR518	QGSDEWDCLDNRIGKRQC	429	DR519	GSQLLTFGWDCLDRPIGQ
2	1	VKL	8	9	RQCVKI
428	DR518	GSSSFPRPCAEDVIMTCK	429	DR520	GSGDEHAYWDCLDRPIGQ
3	3	WRVY	9	0	RQCVKM
428	DR518	GSMLLPRSCAEDVIMTC	430	DR520	GSSGFYERWDCLDHHIGR
4	4	RWAHY	0	1	RQCVKL
428	DR518	GSGKCTEEDVIMTCRSKV	430	DR520	GSMKVTGPWDCLDRPIGQ
5	5	T	1	3	RQCVYL
428	DR518	GSSHFPHPCSEEDVIMTCR	430	DR520	GSLPDTYLTNCIHNHRDLC
6	6	WRVN	2	4	LCSKH
428	DR518	GSVDFPRPCLEDDVIMTC	430	DR520	GSRSSSMPSVCLTDCISLR
7	7	KWRLY	3	5	QCVKL
428	DR518	GSVLDILSCKCLDTSSHVQ	430	DR520	GSSNSMEPRVCLTNCTAL
8	9	CVTL	4	6	RMCAKL
428	DR519	GSRMSSPSFDCKGDFGHR	430	DR520	GSRIDLSQWDCLDYRLGQ
9	0	QCVKL	5	7	RQCVKV
429	DR519	GSGEPSDGRVCLTKCSSLI	430	DR520	GSIGHSRWDGCVGKPGHR
0	1	QCCKF	6	9	QCVKL
429	DR519	GSHCLYVVWECVDHGICL	430	DR521	GSQLLTSMFDCGDRPMGR
1	2	RRCAEL	7	0	RQCVLV
429	DR519	GSNNTTSMWDCLDRPIGQ	430	DR521	GSPHPTATRVCLTDCLSLR
2	3	RQCVKL	8	1	KCLKM
429	DR519	GSYWSFSKWDCLDRPLGQ	430	DR521	GSCTGVLTQACPAQNSFL
3	4	RQCVLL	9	2	QCVEL
429	DR519	GSPTVPNQCHCQDNRISR	431	DR521	GSSNFESRWDGIGNVGSR
4	5	MCVIL	0	3	QCVKL
429	DR519	GSDKFRERWDCLDYRIGH	431	DR521	GSHNHYDDQVCLTQCNN
5	6	RQCIKL	1	4	LRLCIEL
429	DR519	GSMYTDDDRVCLTTCSVL	431	DR521	GSQAPNIESLCLTRCVNLL
6	7	RQCIKL	2	5	HCIKI
429	DR519	GSDLFSSRWDCLGKLGQR	431	DR521	WDCLDRPLGQRQCVLL
7	8	QCVKL	3	6	
431	DR521	FDCKGDFGHRQCVKL			
4	7				
431	DR521	WDCLDRPIGQRQCVKM			
5	9				
431	DR522	WDCLDYRLGQRQCVKV			
6	0				
431	DR522	WDCLDRPIGQRQCVYL			
7	1				
431	DR522	WDCVGKPGHRQCVKL			
8	2				
431	DR522	WDCLDYRIGHRQCIKL			
9	3				
432	DR522	WDCIGNVGSRQCVKL			
0	4				

Связывающие CD3 домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикации онный номер	Пептидная последовательность
432 9	CD32	FDLLCVHVESHKYYCFRP I
433 0	CD34	FILSCHWHNGVVRCEYEV S
433 1	CD38	PPFSCVFDVPIWSWVCGQ KS
433 2	CD311	AQLLCHHVTGKYFSCRE VI
433 3	CD317	DWWLCESEKQTFWCSIL R
433 4	CD318	RGMQCHFECTGWMWVC SLAG
433 5	CD323	FMMQCQYVMNGIYCYD SG
433 6	CD324	FRLGCVPLPVIQACVAQA AAGGSKIWECEQNPQVW ICNLTS
433 7	CD326	PKLLCHDTEIYCFCELL K
433 8	CD328	LFGRCYLYHNLAWYHCV LVW
433 9	CD329	IGLLCKKDHGEWSCFRYI
434 0	CD330	FMVDCQKMPHYICAER G
434 1	CD331	EWQCAYYPQYFQWQCEI LG
434 2	CD332	GPPWCMWHQRQYSWICI FGE
434 3	CD335	IAWDCQWHNQWHAWEC TMNS
434 4	CD337	WDAVLCVKNRCSGLYF
434 5	CD338	TVVRCYQSPYVYWICKFP T
434 6	CD340	FSVICWQKPDYLYCAED A
434 7	CD341	RTVYCGWDANRQAWLC HCQN
434 8	CD342	PGFRCSWWEIAKSWVCT MPV
434 9	CD343	DLLDCSFNEFEWHWTCS FTQ
435 0	CD345	PLVSCQYFPPLHHWRCDF LV
435 1	CD347	DKWKCRWKEAYICMRD S
435 2	CD348	YRLSCQYLSAHQVICSGL W
435 3	CD349	RWAYCSVQDIMWDCTLF P
435 4	CD354	TMITCHWRKDHYDWMC QLEY
435 5	CD356	FILSCHWNLGVVPCYEVS
435 6	CD357	PVMSCEPIGWKCSLQT
435 7	CD360	FSPECHYFPGYWKCTWS L

435 8	CD361	WPQRCVWWWEMDYKC RSLI	437 4	CD3431	TMEVCYWGPFTTATCER WP
435 9	CD365	TYWDCVVGHKHMQLR LS	437 5	CD3432	WECYCQGHVHYTYCVCF R
436 0	CD367	SRGWCQYEQHSQWRCF IHE	437 6	CD3433	NHWFCFTDWHHFVCFKF A
436 1	CD368	RLVSCSWENSKWQWTC VLE	437 7	CD3435	CWVSCWIWPNMWYCWL DC
436 2	CD369	PDSSCHTLYWQLHHCAR RE	437 8	CD3436	GVGGLLLGSVRTGSLPPG VGPG
436 3	CD370	GQVTCNYPATHSWVCS CIS	437 9	CD3438	YAAWCFKLNKLEVICFSG I
436 4	CD3309	TVFRCVVFVNEYRVWFCHI ST	438 0	CD3439	ARFVCFSLVEAQWYCLV LS
436 5	CD3318	GEEVCYWAPFEPVRCLP VW	438 1	CD3440	IYFTCVWYAQQFWCIVM P
436 6	CD3323	VFMVCVHHYEKVKCWA FW	438 2	CD3444	RGWVCYFFPPHFVICYTW V
436 7	CD3324	FFALCKFQNFHTATCLKL I	438 3	CD3446	FSLVCIQMYNQVYCVFIL
436 8	CD3354	WSFLCIKVTQQHYECFLF S	438 4	CD3447	QDFLCVKIEFPWICWTM Q
436 9	CD3364	GLVSCVILPQGWFCKTA	438 5	CD3448	FTCVCYQHYDHFWCGL W
437 0	CD3366	QVKYCVVTHMMCVIDL	438 6	CD3449	ILWACVKQYDGMICWSP S
437 1	CD3399	RSALCHDKMTVKSYSCLS SR	438 7	CD3450	FWLLCIHAPKQDVCFIW M
437 2	CD3412	IFFVCPNNQYDCAVNH	438 8	CD3453	FRALCWEHPPTRYCILFT
437 3	CD3430	WNFFCITFGPYLHCWIYT	438 9	CD3454	TAWWCVIMPPKFFCASF N

439 0	CD3455	GRVSCYWETHLNVVCP SL	440 6	CD3481	GTLRCYSLNWGYFCILFV
439 1	CD3457	IKLECKVHAPSMCLTLW Q	440 7	CD3482	NKVECHIVLWTFHFGCPS AT
439 2	CD3458	YEWSCLITPYGHWCAQT V	440 8	CD3483	TSMVCRSMHMYWLCVN LD
439 3	CD3459	FTLLCIKFELKPYICWVSL	440 9	CD3487	NRVLCMMNYIHVTKLCD RPM
439 4	CD3461	TPRGCTFIFIMPDMCRPSL	441 0	CD3490	PLMLCRHMKHFQYYCW PLA
439 5	CD3462	LRCTCWIFPKNVYCLCLS	441 1	CD3491	PSQRCVNHFFVFNCTQS N
439 6	CD3463	AFLLRCYAQECVILWL	441 2	CD3492	WNFFCITFSPTCIVDLYW PG
439 7	CD3465	GMVSCVIMPQGWFCKT A	441 3	CD3493	WTMRCYSHAPNKLVCV GL
439 8	CD3466	MHWVCIFFPPGFFCVSTF	441 4	CD3494	LVLHCDYQQGVWTCKA VL
439 9	CD3470	LHFRCFQLYNEYWVCIM SV	441 5	CD3495	VMFVCFSLPEQQVCVPLS
440 0	CD3474	WNFLCFFTHHKPVWYCV WTM	441 6	CD3689	PVQICQWTLELQCSPWT
440 1	CD3475	GFQCWC PHVVCFRVPY	441 7	CD3690	LQWVCHWVAECMSMP
440 2	CD3477	MQFLCLTVQTNTWYCF WL	441 8	CD3693	RGFICEWNLVASCVPAT
440 3	CD3478	FIVRCVIGQKLVCVQTE	441 9	CD3694	RIWICDWTIECVESL
440 4	CD3479	WSPNCLWFIKTTYVVCP DST	442 0	CD3697	FVCECFAWDWFGPWQC MCSV
440 5	CD3480	YAWECQWIVKPHQFVCG GM	442 1	CD3700	RFWIECWTEACRPGLLG QAGQGGPGSAGGSYPSIE CYSYMCNVLWF

442 2	CD3703	LRSSCEYHQTCNQSSQAA AGGSREMKCDWRVDCL YYV
442 3	CD3704	TLTVCQWVLHATCVDVQ
442 4	CD3706	VSIRCHQYLLCVFES
442 5	CD3707	SAWFCEWTFQCQLMG
442 6	CD3708	GFIVCYWEAVCQSST
442 7	CD3709	VLWRCTWVMECVSVS
442 8	CD3718	DMWLCHWRIECPYL
442 9	CD3724	PWASCYFYQEHVHCLPP D
443 0	CD3743	SYSVCEWEFVYSCWPPY
443 1	CD3789	RQQPCLKIWSCLQLY
443 2	CD3793	PVQICQWTLELPCSPWT
443 3	CD3832	PVPICPWTLELHCPPWTG HA
443 4	CD3872	MACLCVSWSKCTPLG
443 5	CD3882	QTMKCPMEMGHCTTWR
443 6	CD3912	FILLCHQYLVCIKQE
443 7	CD3919	FYMRDCLSHRCRLDLS

443 8	CD3924	GFQLACRFMSCGCRSC
443 9	CD3935	PLMLCRHMKHFEYYCWP L
444 0	CD3940	QDFLCVKIEFPFWICWTM QGQ
444 1	CD3942	IYFYCVEWYQKWICYTV V
444 2	CD3952	VTCFYVETDHVVCFREA
444 3	CD3959	GRVSCYWETHLNVVCVP SL
444 4	CD3960	FPCVCIMTHHHLECFFIG Q
444 5	CD3972	FSLVCIQMYNQVYCVFIL GQ
444 6	CD3981	ILWACVKQYDGMICWSP SGQ
444 7	CD3992	VKLPCFLIQEMGWMCFW PL
444 8	CD3998	WNFFCINFSPYLHCWIYT GQ
444 9	CD3100	MYVLCKEAQVGQQWKC VQFF
445 0	CD3101	YTPECGWGYMIMFKHCR HYE
445 1	CD3102	FWLLCLHVWNKTTVYCL VKH
445 2	CD3103	FQCVCVHWNDGRVVCL CHY
445 3	CD3103	DYTSCQFRGWLICEAMA

445 4	CD3103 5	LVMLCWKWHEVRHCLL LS	447 0	CD3117 3	VTCFYVETDHVVCFREA
445 5	CD3103 9	VVLTCSSSWERSVFCRL VE	447 1	CD3117 9	GRVSCYWETHLNVVCP SL
445 6	CD3104 5	LAFLCIHWQEHLWCIVRP	447 2	CD3118 0	FPCVCIMTHHHLECFI
445 7	CD3104 7	SVVTCYHMFWDRIICFL Q	447 3	CD3119 0	FSLVCIQMYNQVYCVFIL
445 8	CD3105 1	TVRCWCEHMCVCFMERD	447 4	CD3119 9	ILWACVKQYDGMICWSP S
445 9	CD3105 4	CHFLCFKLGFMIFYCEY SC	447 5	CD3121 1	ADSWCHTLYWNLRHCEI QE
446 0	CD3105 8	VMLACYKHPLNNEWCY ILP	447 6	CD3121 7	WNFFCINFSPYLHCWIYT
446 1	CD3106 3	FRVLCADVPGHRYCFIVS	447 7	CD3124 9	ESLDCATPLLLCTGCGDQ A
446 2	CD3106 8	LVFRCLHITQHWFCGLT	447 8	CD3125 4	SFQMCMGWFWWCWSHS
446 3	CD3107 7	EYDSCMFYGFICPKQT	447 9	CD3125 5	WSQSGCTYAHCMYCIH
446 4	CD3107 9	MLFVRCEHGRCTVYEI	448 0	CD3142 0	VNCWLHLQFFYSEQYCIE
446 5	CD3108 6	CEIFCMVSLETQKMVCV HRA	448 1	CD3156 7	ATGGSLVVKCDWWLDC LVYL
446 6	CD3112 0	MGFLCWSQPGNEYEWC VPIN	448 2	CD3157 9	DLQICHWTLELECSPRK
446 7	CD3113 8	RFIHCVFHFEWINHIVCFV GT	448 3	CD3160 5	ATGGSREIRCKWRVDCM CYS
446 8	CD3116 2	QDFLCVKIEFPWICWTM Q	448 4	CD3163 1	SLSSCELYYKCRHFSQAG QGSATGGSLVVKCDWW LDCLVYL
446 9	CD3116 5	DRALCWLPHFATVQCII MS			

448 5	CD3164 4	LRCFCDYYQTCKQYTV A GQGSATGGSREIRCKWR VDCMCYS
448 6	CD3165 6	WNYFCVYFSPYLHCWIY S
448 7	CD3166 3	WNFVCIFVSPYMHCWLY F
448 8	CD3169 7	WKFLCINLSPYLHCWIYP
448 9	CD3171 8	WNFFCIYISPHVHCWIHS
449 0	CD3172 7	IAWDCVVGQKYMLCQRL S
449 1	CD3180 3	CQERCCKMIKSIVMQCN LRL
449 2	CD3190 9	SVSVCVEHAYGQWYCFA AR
449 3	CD3191 5	TMKCPMEMGHCTTWR

Хотя настоящее изобретение было описано со ссылками на приведенные выше примеры, следует понимать, что в сущность и объем настоящего изобретения входят модификации и варианты. Соответственно, настоящее изобретение ограничено исключительно приведенной ниже формулой изобретения.

Все цитируемые публикации, патенты, патентные заявки, интернет-сайты и номера доступа/базы данных последовательностей (включающие как полинуклеотидные, так и полипептидные последовательности), включены в настоящий документ посредством ссылки полностью и для всех целей, в той же степени, как если бы каждая индивидуальная публикация, патент, патентная заявка, интернет-сайт или номер доступа/база данных последовательностей были специфически и индивидуально указаны как включенные посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Пептид, обладающий способностью связывать рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), при этом указанный пептид содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 3109.
2. Полинуклеотид, кодирующий пептид по п.1.
3. Экспрессионный вектор, содержащий полинуклеотид по п.2.
4. Комплекс, содержащий антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), при этом указанный MRD содержит пептид по п.1 и связывает EGFR, причём указанный комплекс связывает мишень указанного антитела.
5. Комплекс по п.4, отличающийся тем, что мишень указанного антитела представляет собой EGFR.
6. Комплекс по п.5, отличающийся тем, что указанное антитело представляет собой цетуксимаб.
7. Комплекс по любому из пп.4-6, отличающийся тем, что указанный комплекс содержит дополнительный MRD, причём указанный дополнительный MRD связывает ErbB3.
8. Способ ингибирования роста клетки *in vitro*, который включает приведение указанной клетки в контакт с комплексом по любому из пп.4-7.
9. Применение комплекса по любому из пп.4-7 для ингибирования ангиогенеза у пациента.
10. Применение комплекса по любому из пп.4-7 для лечения рака.
11. Способ ингибирования ангиогенеза у пациента, который включает введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества комплекса согласно любому из пп.4-7.
12. Способ по п.11, отличающийся тем, что ингибирование ангиогенеза дополнительно включает введение ингибитора протеинкиназы.
13. Способ по п.12, отличающийся тем, что указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень MRD-содержащего антитела.
14. Способ по п.12, отличающийся тем, что указанный ингибитор протеинкиназы выбран из группы, состоящей из иматиниба, гефитиниба, вандетаниба, эрлотиниба, сунитиниба, лапатиниба и сорафениба.
15. Способ по п.12, отличающийся тем, что указанный ингибитор протеинкиназы выбран из группы, состоящей из лестауртиниба, тофацитиниба, руксолитиниба, SB1518, CYT387, LY3009104, TG101348, фостаматиниба, BAY 61-3606 и сунитиниба.

16. Способ лечения рака у пациента, который включает введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества комплекса согласно любому из пп.4-7.

17. Способ по п.16, отличающийся тем, что лечение рака дополнительно включает введение ингибитора протеинкиназы.

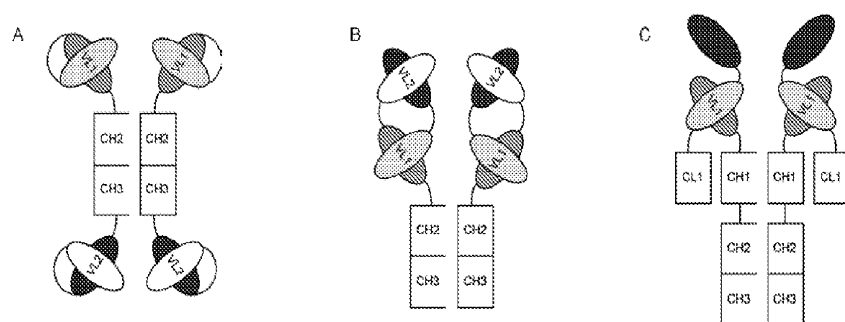
18. Способ по п.17, отличающийся тем, что указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень MRD-содержащего антитела.

19. Способ по п.17, отличающийся тем, что указанный ингибитор протеинкиназы выбран из группы, состоящей из иматиниба, гефитиниба, вандетаниба, эрлотиниба, сунитиниба, лапатиниба и сорафениба.

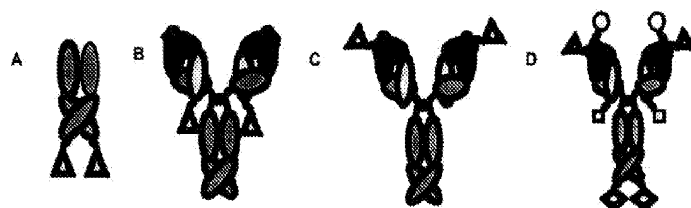
20. Способ по п.17, отличающийся тем, что указанный ингибитор протеинкиназы выбран из группы, состоящей из лестауртиниба, тофацитиниба, руксолитиниба, SB1518, CYT387, LY3009104, TG101348, фостаматиниба, BAY 61-3606 и сунитиниба.

21. Клетка-хозяин, содержащая полинуклеотид по п.2 или вектор по п.3 для экспрессии пептида по п.1.

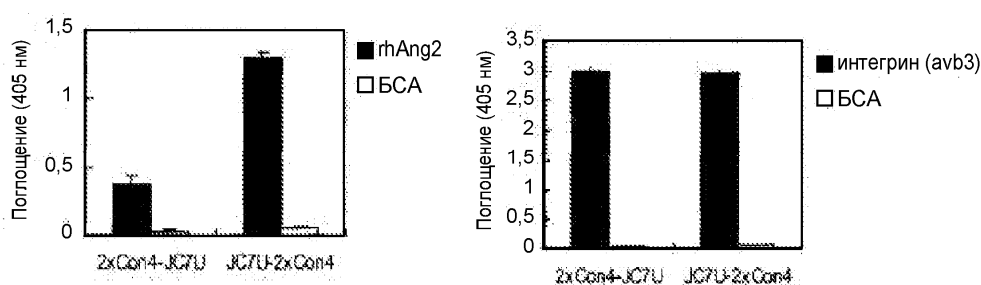
22. Фармацевтическая композиция для лечения рака, содержащая комплекс по любому из пп.4-7 и подходящий носитель, вспомогательное вещество или стабилизатор.



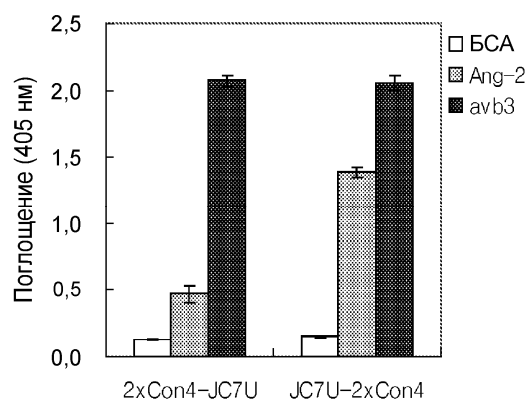
Фиг. 1



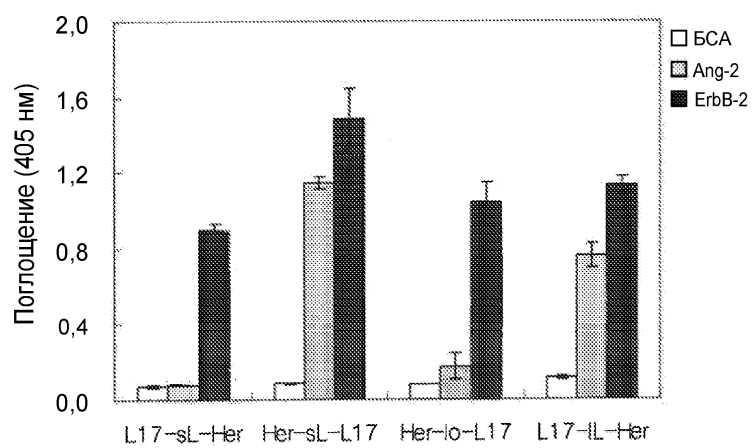
Фиг. 2



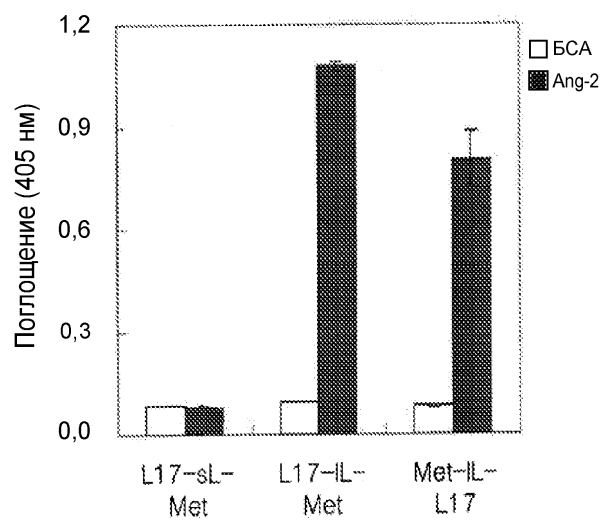
Фиг. 3



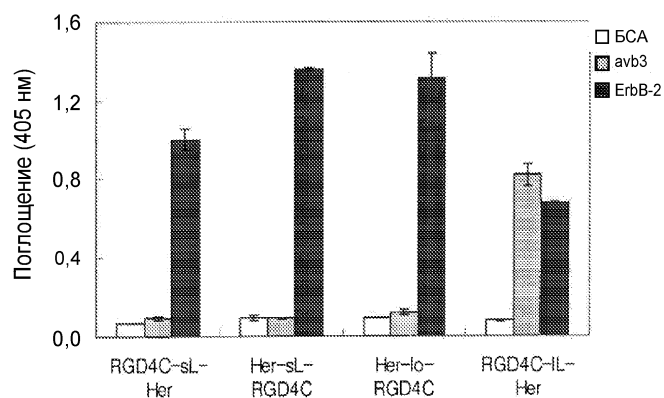
Фиг. 4



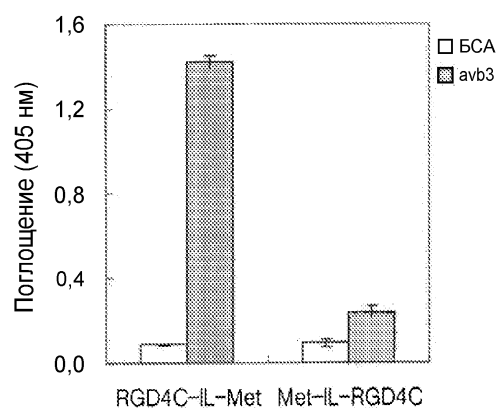
Фиг. 5



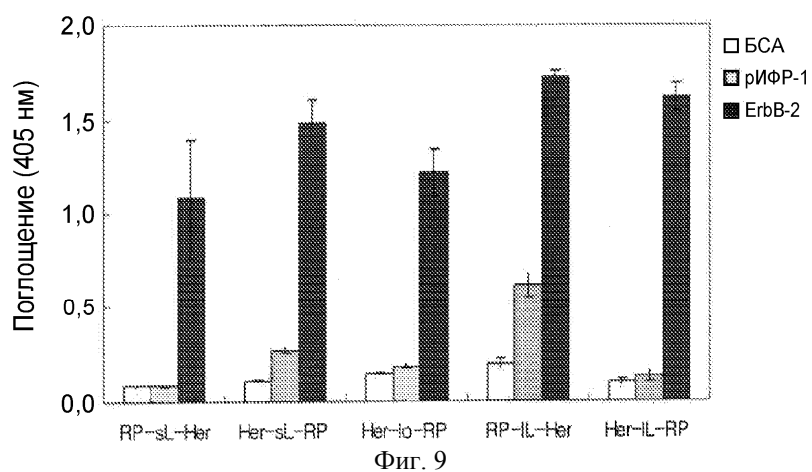
Фиг. 6



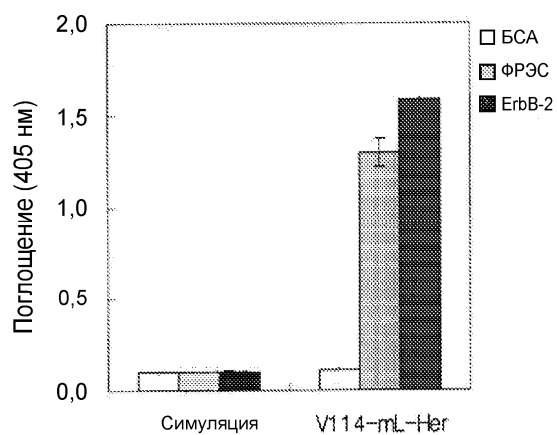
Фиг. 7



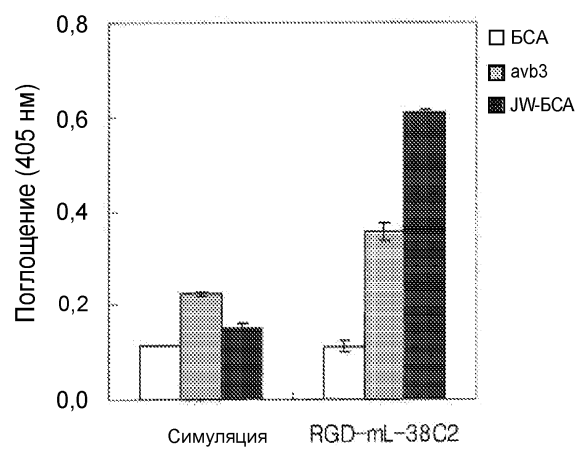
Фиг. 8



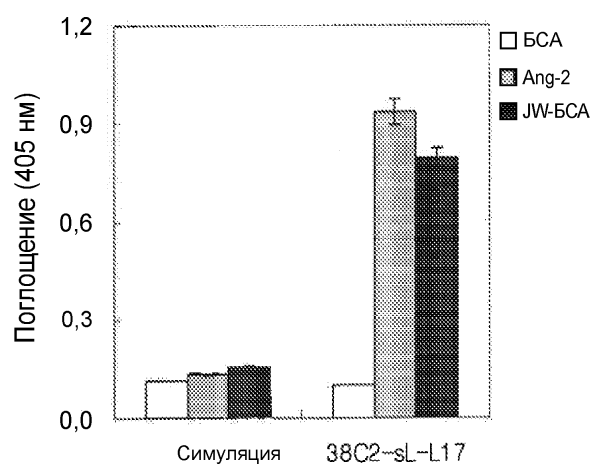
Фиг. 9



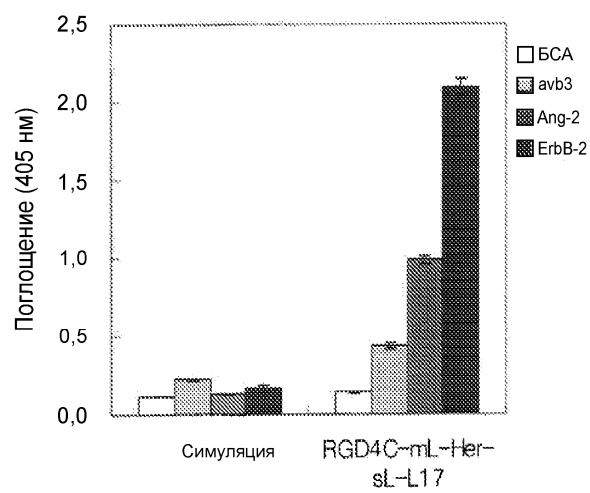
Фиг. 10



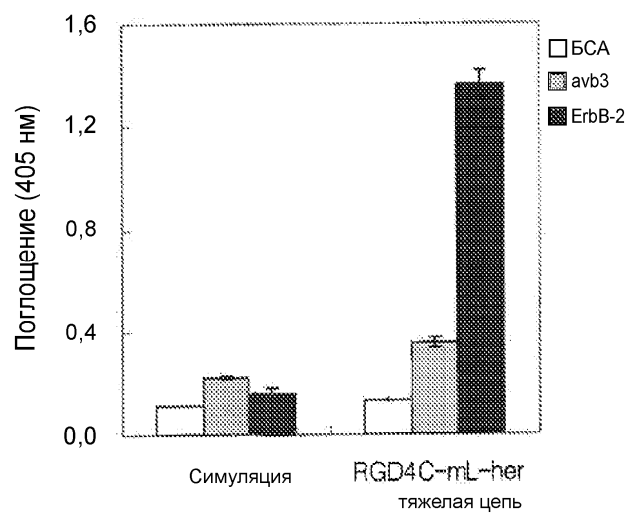
Фиг. 11



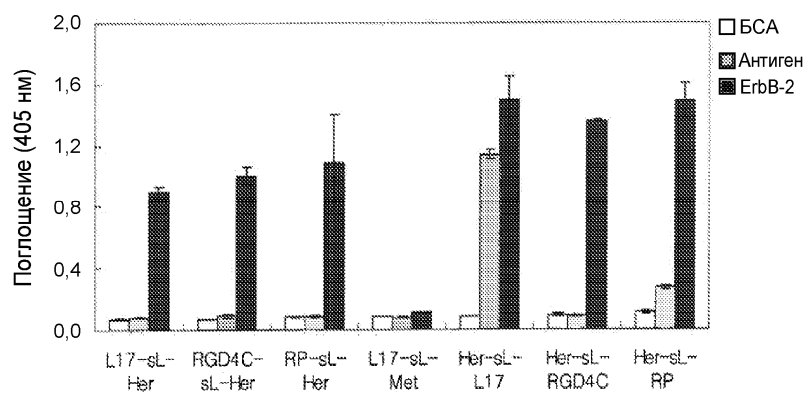
Фиг. 12



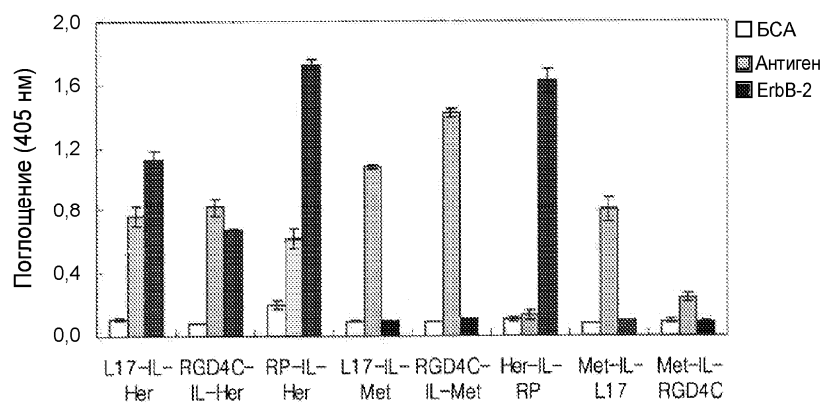
Фиг. 13



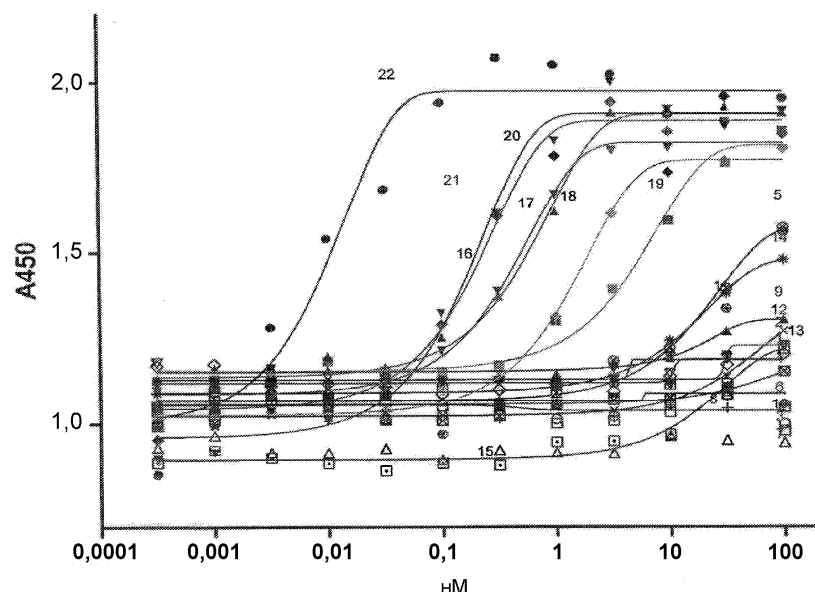
Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16



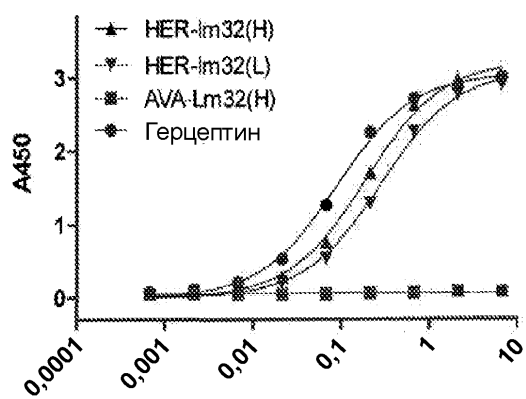
Фиг. 17A1

- 1 ▽ L17D MQD 5 ⊙ L17D MED 9 ▲ L17D MYD 13 ◇ L17D MVD 17▲ L17D MGD 21 ▽ L17D DD 5/7
 2 ▽ L17D MPD 6 ▢ L17D MID 10○ L17D MFD 14 * L17D MHD 18* L17D MSD 22 * 2xLm32 4/23
 3 □ L17D MWD 7 △ L17D MLD 11 • L17D MFD* 15 ▢ L17D MRD 19 * L17D MTD
 4 ⊙ L17D MMD 8 + L17D MKD 12 × L17D MAD 16 ▽ L17D MND 20 * Lm32 KtoS

Фиг. 17A2

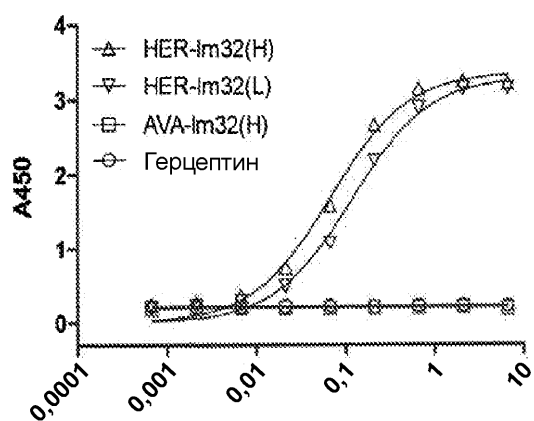
Белок	ID клонa	Последовательность MRD	EC50, нМ
L1-7D MDD	ZC12	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:114)	0.153
L1-7D MQD	1A12	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:115)	>100
L1-7D MVD	2A1	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:116)	>100
L1-7D MHD	3C3	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:117)	17.00
L1-7D MND	4H4	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:118)	0.411
L1-7D MKD	5A8	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:119)	>100
L1-7D MAD	6A3	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:120)	>100
L1-7D MSD	7B2	PGKGGGSMGAQTNFMPMSDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:121)	1.380
L1-7D MRD	8B12	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:122)	>100
L1-7D MGD	9C7	PGKGGGSMGAQTNFMPMGDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:123)	0.600
L1-7D MTD	10B12	PGKGGGSMGAQTNFMPMTDDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:124)	7.340
L1-7D MYD	11B10	PGKGGGSMGAQTNFMPMTDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:125)	>100
L1-7D MPD	12C12	PGKGGGSMGAQTNFMPMPDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:126)	>100
L1-7D MID	13D5	PGKGGGSMGAQTNFMPMIDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:127)	>100
L1-7D MFD	14F11	PGKGGGSMGAQTNFMPMTDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:128)	>100
L1-7D MWD	15G12	PGKGGGSMGAQTNFMPMTDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:129)	>100
L1-7D MLD	16E5	PGKGGGSMGAQTNFMPMLDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:130)	>100
L1-7D MED	17F9	PGKGGGSMGAQTNFMPMEDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:131)	>100
L1-7D MMD	18E3	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:132)	>100
L1-7D MFD*	14G4*	PGKGGGSMGAQTNFMPMTDDEQRLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:133)	>100
Lm32 KtoS	ZC10	PGSGGGSMGAQTNFMPMDNDELLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:134)	0.199
Lm32 2X	ZC39	PGKGGGSMGAQTNFMPMDNDELLYEQFILQGGLEGGGSMGAQTNFMPMDNDEL LLYEQFILQGGLE (SEQ ID NO:135)	0.005

Фиг. 17B



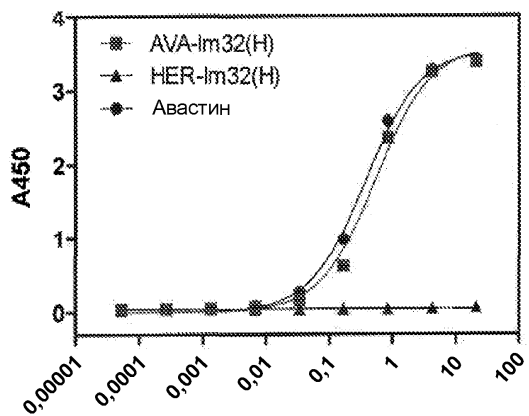
Антитело Zybody или другое антитело (нМ)

Фиг. 18А



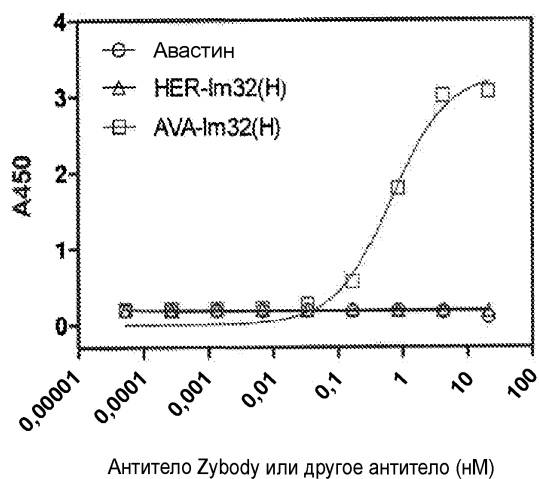
Антитело Zybody или другое антитело (нМ)

Фиг. 18В

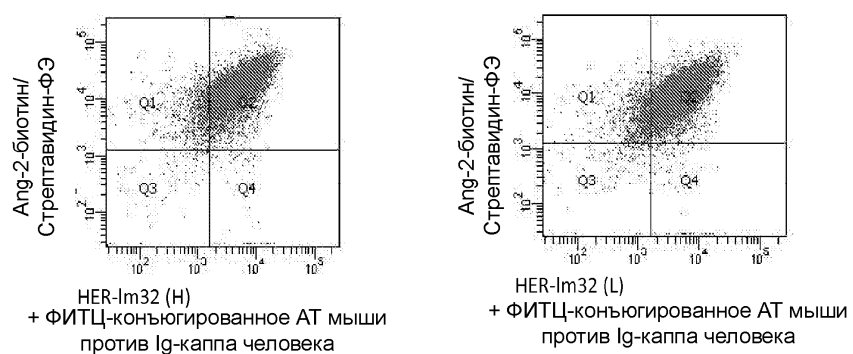


Антитело Zybody или другое антитело (нМ)

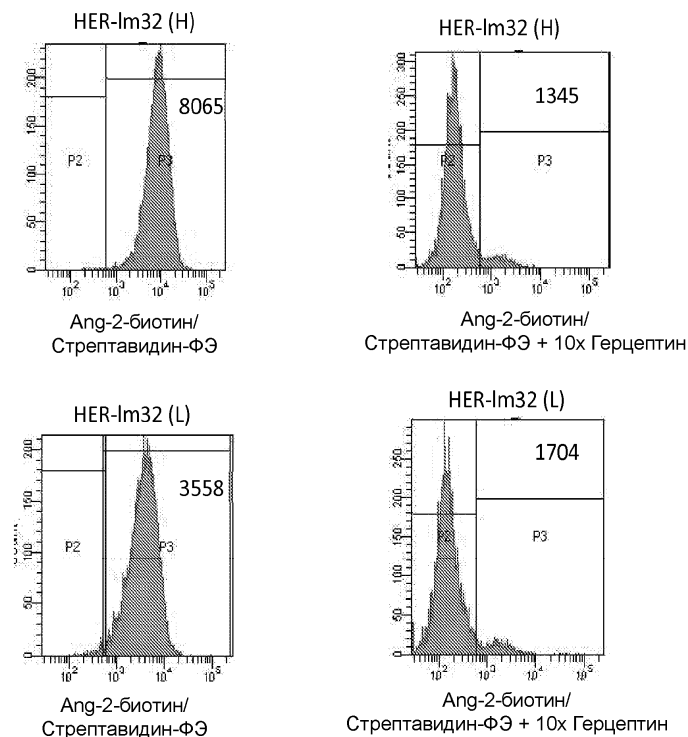
Фиг. 19А



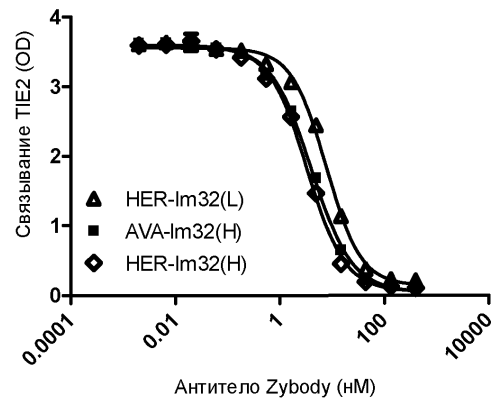
Фиг. 19В



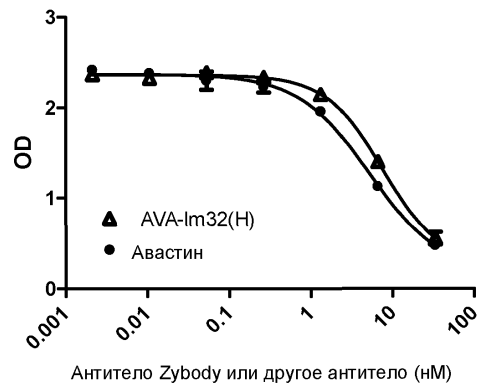
Фиг. 20А



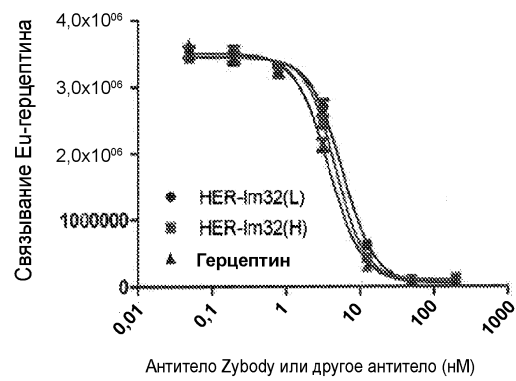
Фиг. 20В



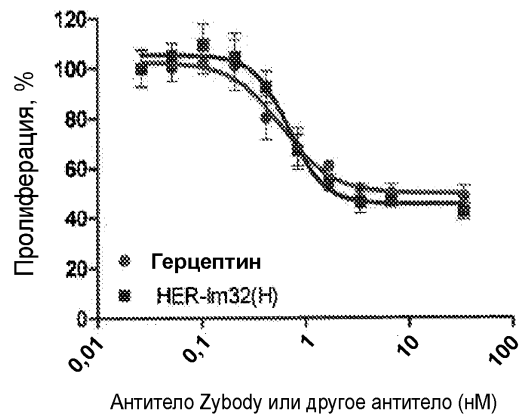
Фиг. 21



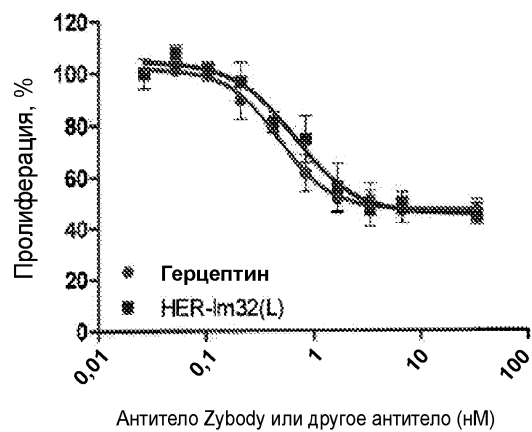
Фиг. 22



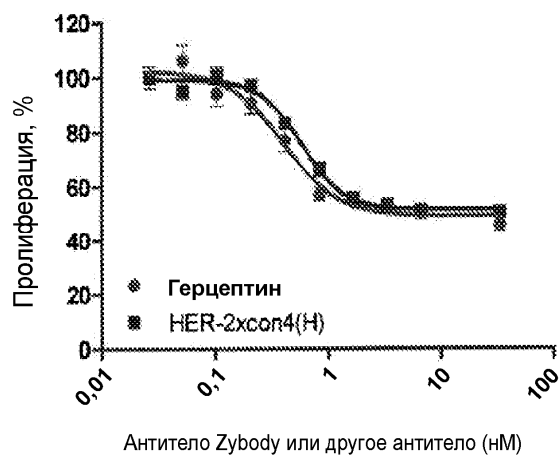
Фиг. 23



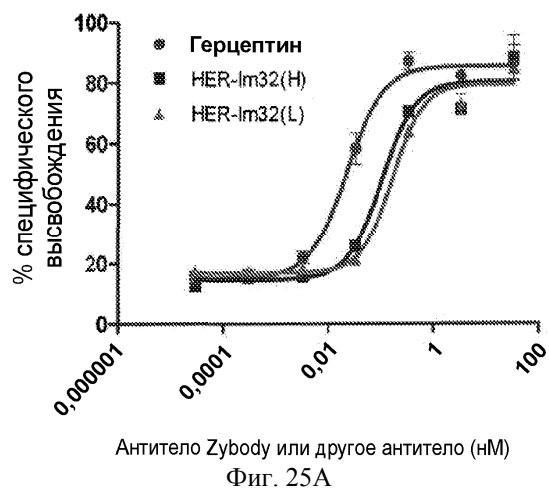
Фиг. 24А



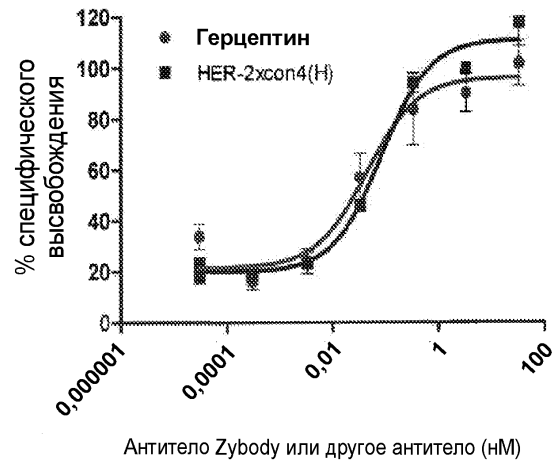
Фиг. 24В



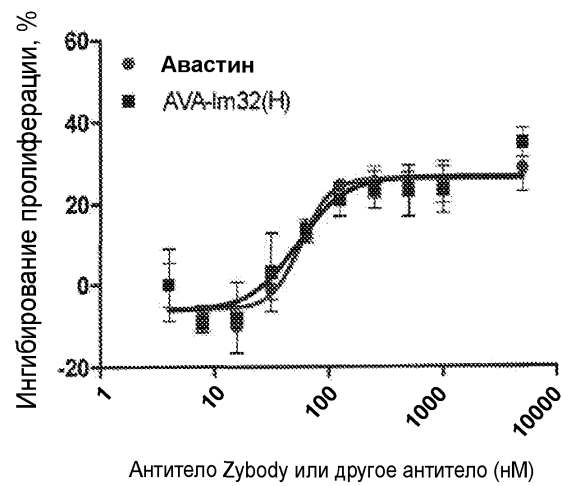
Фиг. 24С



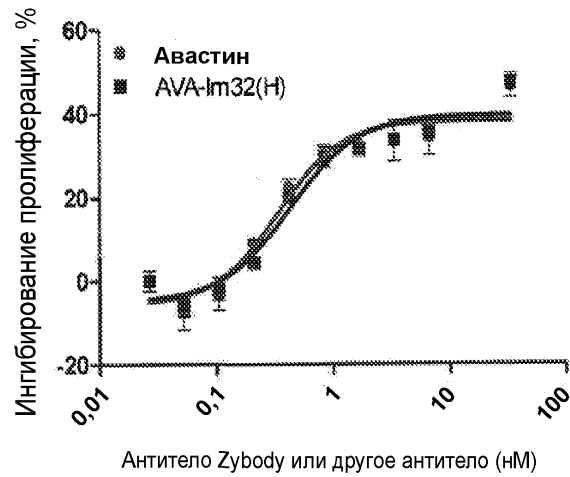
Фиг. 25А



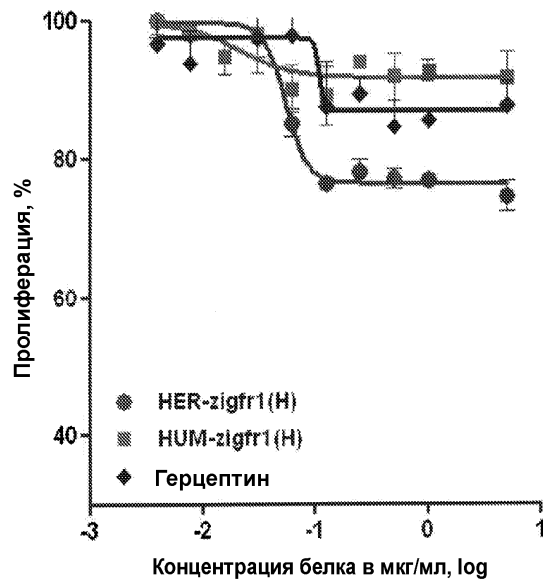
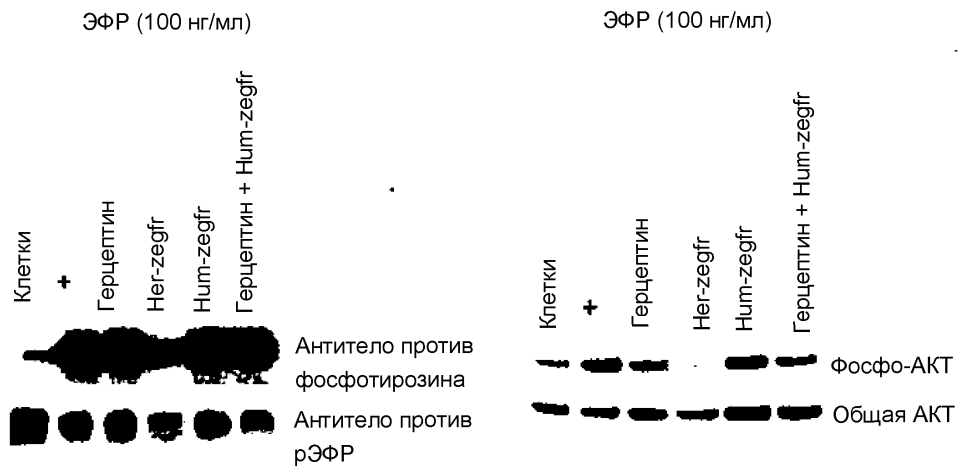
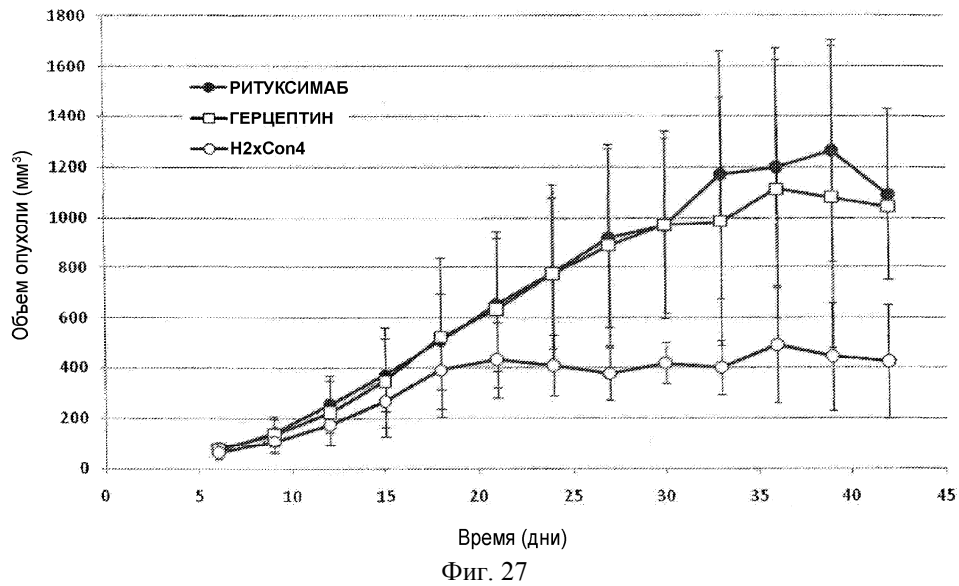
Фиг. 25В

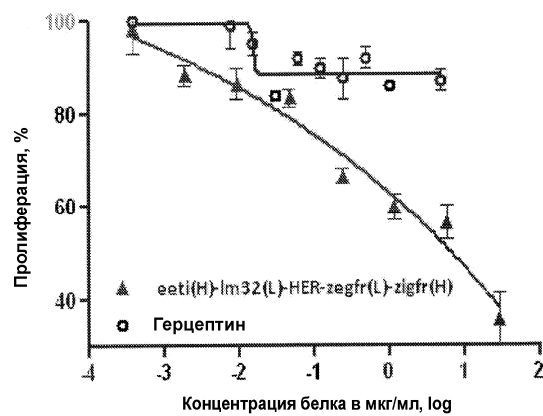


Фиг. 26А

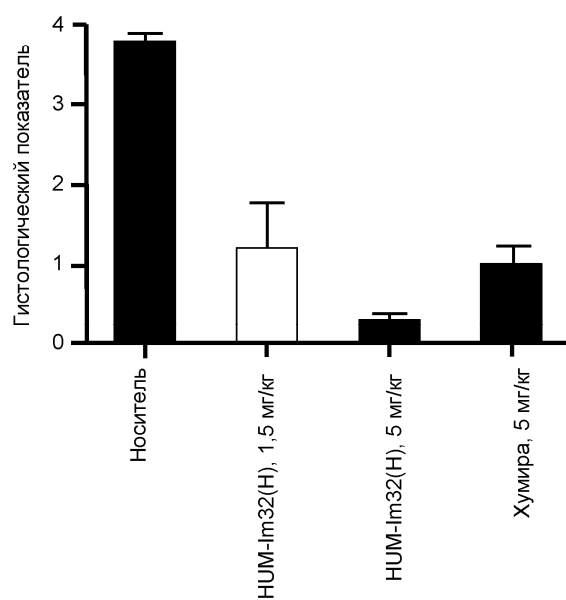
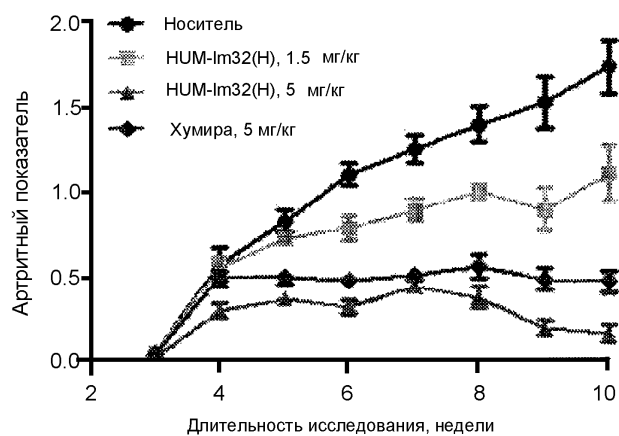


Фиг. 26В

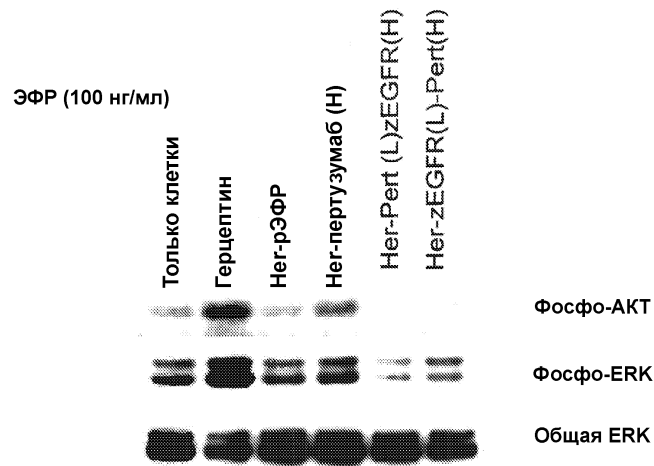




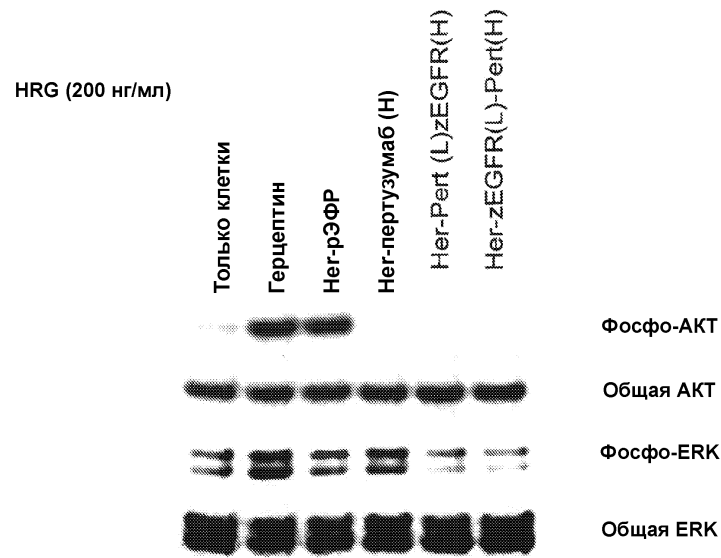
Фиг. 29В



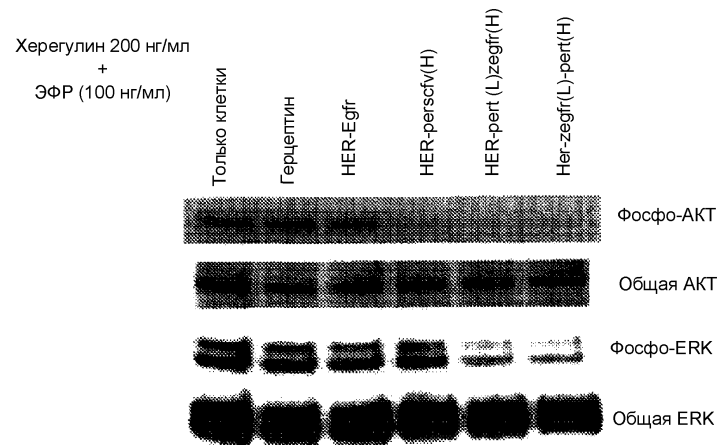
Фиг. 30



Фиг. 31

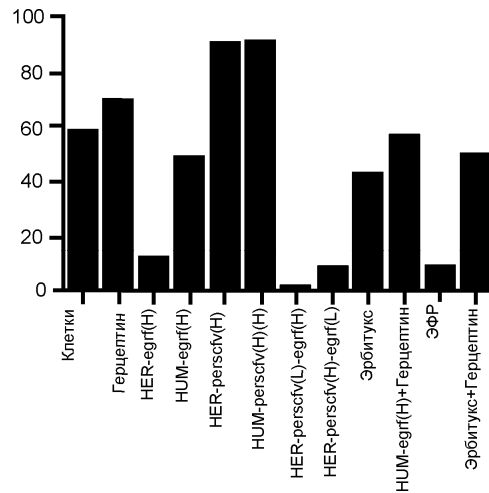


Фиг. 32

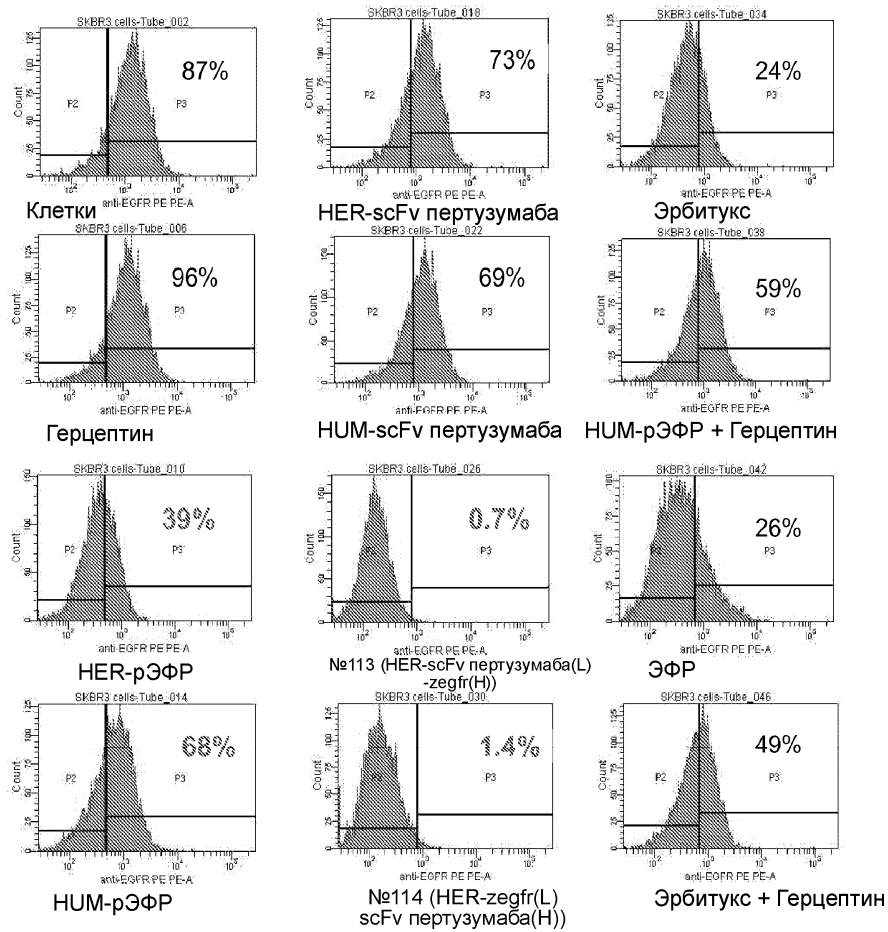


Фиг. 33

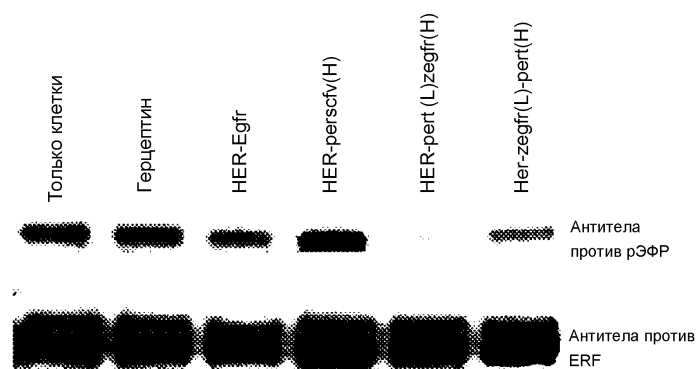
038918



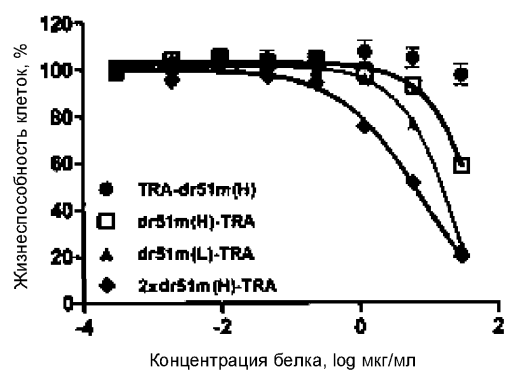
Фиг. 34А



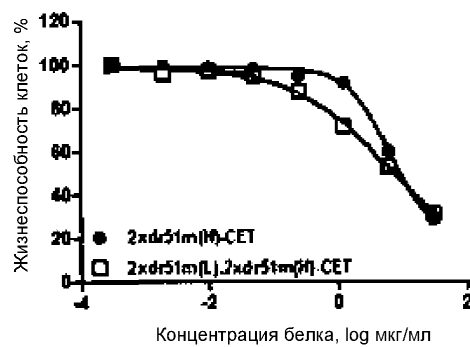
Фиг. 34В



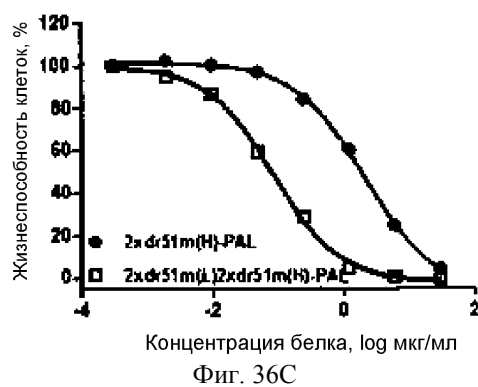
Фиг. 35



Фиг. 36А



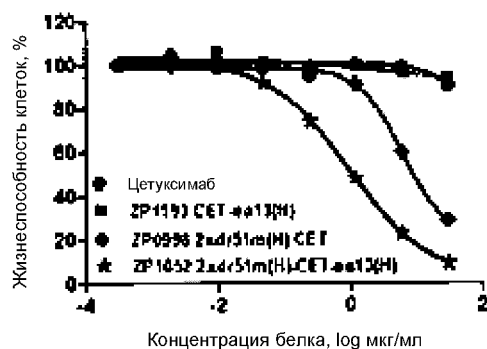
Фиг. 36В



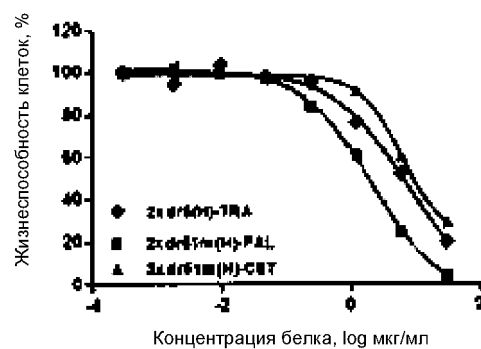
Фиг. 36С



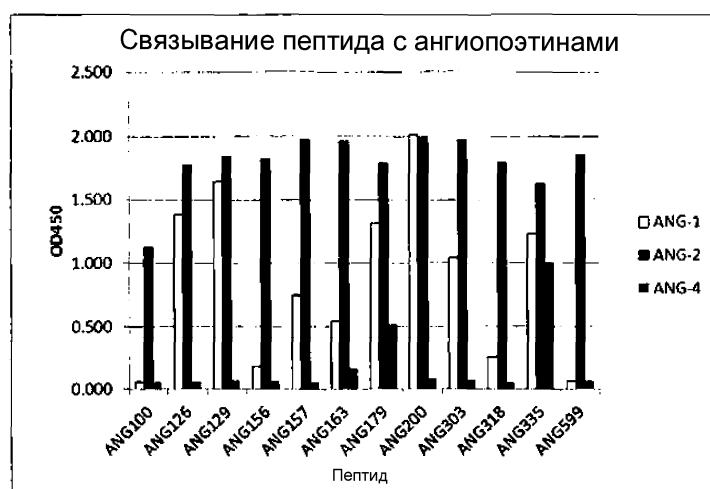
Фиг. 36D



Фиг. 36E



Фиг. 36F



Фиг. 37

