(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202190603 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.07.14

(22) Дата подачи заявки
2019.08.22

(51) Int. Cl. ***A61K 39/395*** (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/32 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)

(54) ПОЛИПЕПТИДЫ АНТИ-HER2 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) **62/721,505**
(32) **2018.08.22**
(33) **US**
(86) **PCT/US2019/047728**
(87) **WO 2020/041604 2020.02.27**

(71) Заявитель:
ДЕНАЛИ ТЕРАПЬЮТИКС ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Деннис Марк С., Кван Ванда, Льюкок Джозеф В., Соколоски Джонатан, Дзукеро Джой Ю (US)

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

(57) Данное изобретение относится к конструкциям анти-HER2, таким как слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, которые проникают через ГЭБ и связываются с HER2 в паренхиме головного мозга. В некоторых вариантах осуществления конструкции анти-HER2 (например, слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) сохраняют эффекторную функцию при связывании с HER2, но не приводят к существенному истощению популяции ретикулоцитов in vivo. Данное изобретение также относится к способам трансцитоза вариабельной области антитела анти-HER2 через ГЭБ и лечения HER2-положительных онкологических заболеваний и их метастатических поражений.

202190603 A1

202190603 A1

ПОЛИПЕПТИДЫ АНТИ-HER2 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Уровень техники

Лечение метастазов в мозг от рака, такого как рак молочной железы, в настоящее время представляет собой серьезную клиническую проблему. Среди пациентов с раком молочной железы частота метастазов в мозг достигает 50%. Клинические данные указывают на склонность HER2-положительного рака молочной железы к метастазированию в мозг. Примечательно, что терапия против HER2 оказалась полезной для контроля экстракраниальных опухолей, но не интракраниальных поражений. Неспособность этих методов лечения контролировать метастатические поражения, такие как метастазы в головной мозг HER2-положительного рака молочной железы, в основном объясняется неспособностью терапевтических агентов преодолевать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и получать доступ к паренхиме мозга. Таким образом, существует потребность в новых терапевтических средствах, которые могут проникать через ГЭБ и нацеливаться на HER2 в паренхиме мозга.

Сущность изобретения

В некоторых аспектах в данному документе предложен слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержащий: (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать рецептор 2 эпидермального фактора роста человека (HER2) или ее антигенсвязывающий фрагмент; и (b) димер модифицированного полипептида Fc, содержащий первый полипептид Fc, который содержит аминокислотную модификацию(и) для создания сайта связывания TfR. Вариабельная область антитела может включать вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи.

В некоторых вариантах осуществления белок содержит (i) две копии легкой цепи антитела, (ii) первую вариабельную область тяжелой цепи, которая слита с первым полипептидом Fc, и (iii) вторую вариабельную область тяжелой цепи, которая слита со вторым полипептидом Fc. Каждая легкая цепь может быть спарена с одной из вариабельных областей тяжелой цепи, первый и второй полипептиды Fc могут вместе образовывать димер Fc. Первая вариабельная область тяжелой цепи может (от N-конца до C-конца) быть слита с доменом CH1, который, в свою очередь, слит с шарнирной областью, которая, в свою очередь, слита с первым полипептидом Fc и/или вторая вариабельная область тяжелой цепи может (от N-конца до C-конца) быть слита с доменом CH1, который, в свою очередь, слит с шарнирной областью, которая, в свою очередь,

слита со вторым полипептидом Fc.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более (например, все шесть) определяющих комплементарность областей (CDR), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 70; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 72; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 73; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 74.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более(например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:71; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:72; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:73, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:74.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более (например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с

аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 75 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 76 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 76; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 77 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 77; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 78 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 78; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 79; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 80.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR (например, все шесть), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:76; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:77; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:78; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:79, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:80.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более (например, все шесть) определяющих комплементарность областей (CDR), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 250 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID

NO: 251 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 251; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 252 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 252; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 253 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 253; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 254; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 255.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более(например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:252; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:253; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:254, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:255.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

В некоторых вариантах осуществления сайт связывания TfR находится в модифицированном домене CH3. В некоторых вариантах осуществления модифицированный домен CH3 происходит из домена CH3 IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления модифицированный домен CH3 содержит одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или одиннадцать замен в наборе аминокислотных положений, включающем 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 415, 416 и 421 в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированный домен CH3 содержит Glu, Leu, Ser, Val, Trp, Tyr или Gln в положении 380; Leu, Tyr, Phe, Trp, Met, Pro или Val в положении 384; Leu, Thr, His, Pro, Asn, Val или Phe в положении 386; Val, Pro, Ile или кислую

аминокислоту в положении 387; Trp в положении 388; алифатическую аминокислоту, Gly, Ser, Thr или Asn в положении 389; Gly, His, Gln, Leu, Lys, Val, Phe, Ser, Ala, Asp, Glu, Asn, Arg или Thr в положении 390; кислую аминокислоту, Ala, Ser, Leu, Thr, Pro, Ile или His в положении 413; Glu, Ser, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln или Arg в положении 415; Thr, Arg, Asn или кислую аминокислоту в положении 416; и/или ароматическую аминокислоту His или Lys в положении 421 в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела связывается с апикальным доменом TfR. В некоторых вариантах осуществления один из полипептидов Fc содержит аминокислотные модификации, которые снижают связывание FcγR, когда димер полипептида Fc связан с TfR (например, но имеет ограниченное или нулевое снижение связывания, когда не связан с TfR). Эти модификации могут содержать Ala в положении 234 и в положении 235 в первом полипептиде Fc в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления оба полипептида Fc содержат аминокислотные модификации, которые снижают связывание FcγR (например, оба полипептида содержат Ala в положении 234 и в положении 235).

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептида Fc и вариабельной области антитела является дефицитным по фукозе или афукозилированным (например, как описано в данном документе).

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержат аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке, включают (i) Leu в положении 428 и Ser в положении 434, или (ii) Ser или Ala в положении 434, в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит мутацию типа «выступ» T366W, а второй полипептид Fc содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:63. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 67 и 68.

В других аспектах в данном документе предложен слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержащий (a) вариабельную область

антитела, которая способна связывать HER2 человека или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR и мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более (например, все шесть) определяющих комплементарность областей (CDR), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 70; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 72; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 73; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 74.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более(например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:71; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:72; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:73, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:74.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более (например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 75 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 76 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 76; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 77 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 77; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 78 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 78; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 79; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 80.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR (например, все шесть), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:76; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:77; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:78; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:79, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:80.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более (например, все шесть) определяющих комплементарность областей (CDR), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере

90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 250 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 251 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 251; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 252 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 252; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 253 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 253; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 254; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 255.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более(например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:252; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:253; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:254, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:255.

[0001] В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1, 9, 17 и 81. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 2, 10, 18 и 82. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 29, 37, 45 и 89. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 30, 38, 46 и 90. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 258, 266, 274 и 282. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 259, 267, 275 и 283. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 290. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В других аспектах в данном документе предложен слитый белок димер

полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержащий (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 человека или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, мутацию типа «выступ» T366W и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более (например, все шесть) определяющих комплементарность областей (CDR), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 70; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 72; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 73; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 74.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более(например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:71; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:72; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:73, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:74.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит

две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более (например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 75 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 76 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 76; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 77 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 77; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 78 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 78; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 79; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 80.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR (например, все шесть), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:76; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:77; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:78; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:79, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:80.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит

одну или более (например, все шесть) определяющих комплементарность областей (CDR), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 250 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 251 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 251; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 252 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 252; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 253 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 253; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 254; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 255.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более(например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:252; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:253; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:254, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:255.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 3, 11, 19 и 83. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит

аминокислотные модификации L234A и L235A. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 4, 12, 20 и 84. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 31, 39, 47 и 91. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 32, 40, 48 и 92. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 260, 268, 276 и 284. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 261, 269, 277 и 285. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 290. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность

SEQ ID NO:293.

В других аспектах в данном документе предложен слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержащий (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 человека или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR и мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более (например, все шесть) определяющих комплементарность областей (CDR), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 70; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 72; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 73; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 74.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более(например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:71; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:72; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:73, и (f) CDR3

легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:74.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более (например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 75 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 76 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 76; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 77 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 77; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 78 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 78; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 79; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 80.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR (например, все шесть), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:76; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:77; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:78; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:79, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:80.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более (например, все шесть) определяющих комплементарность областей (CDR), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 250 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 251 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 251; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 252 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 252; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 253 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 253; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 254; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 255.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более(например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:252; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:253; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:254, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:255.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую

аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1, 9, 17 и 81. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 2, 10, 18 и 82. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 29, 37, 45 и 89. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 30, 38, 46 и 90. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 258, 266, 274 и 282. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 259, 267, 275 и 283. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 291. В некоторых

вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В других аспектах в данном документе предложен слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержащий (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 человека или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, мутацию типа «выступ» T366W и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более (например, все шесть) определяющих комплементарность областей (CDR), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 70; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 72; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 73; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 74.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более(например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70; (c) CDR3

тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:71; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:72; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:73, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:74.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более (например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 75 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 76 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 76; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 77 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 77; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 78 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 78; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 79; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 80.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR (например, все шесть), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:76; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:77; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:78; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:79, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:80.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более (например, все шесть) определяющих комплементарность областей (CDR), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 250 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 251 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 251; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 252 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 252; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 253 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 253; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 254; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 255.

[0002] В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более(например, все шесть) CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:252; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:253; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:254, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:255.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи,

содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

[0003] В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 3, 11, 19 и 83. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 4, 12, 20 и 84. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 31, 39, 47 и 91. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 32, 40, 48 и 92. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 260, 268, 276 и 284. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:

261, 269, 277 и 285. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 291. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

[0004] В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc не приводит к существенному истощению популяции ретикулоцитов. В некоторых вариантах осуществления количество ретикулоцитов после введения слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, меньше, чем количество ретикулоцитов после введения контроля. В некоторых вариантах осуществления контроль представляет собой соответствующий слитый белок димер TfR-связывающего полипептида-вариабельная область антитела с полной эффекторной функцией и/или не содержит мутаций, которые уменьшают связывание FcγR.

В других аспектах, в данном документе предложена тяжелая цепь антитела, содержащая:(a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 человека, или ее фрагмент; и (b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит одну или более аминокислотных модификаций, которые снижают связывание FcγR при связывании с TfR.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 70; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность

SEQ ID NO: 69; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70, и (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 75 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 76 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 76; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 77 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 77. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76, и (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 250 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 251 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 251; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 252 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной

последовательности SEQ ID NO: 252. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 250; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 251, и (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 252. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256.

В некоторых вариантах осуществления сайт связывания TfR находится в модифицированном домене CH3. В некоторых вариантах осуществления модифицированный домен CH3 происходит из домена CH3 IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления модифицированный домен CH3 содержит одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или одиннадцать замен в наборе аминокислотных положений, включающем 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 415, 416 и 421 в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированный домен CH3 содержит Glu, Leu, Ser, Val, Trp, Tyr или Gln в положении 380; Leu, Tyr, Phe, Trp, Met, Pro или Val в положении 384; Leu, Thr, His, Pro, Asn, Val или Phe в положении 386; Val, Pro, Ile или кислую аминокислоту в положении 387; Trp в положении 388; алифатическую аминокислоту, Gly, Ser, Thr или Asn в положении 389; Gly, His, Gln, Leu, Lys, Val, Phe, Ser, Ala, Asp, Glu, Asn, Arg или Thr в положении 390; кислую аминокислоту, Ala, Ser, Leu, Thr, Pro, Ile или His в положении 413; Glu, Ser, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln или Arg в положении 415; Thr, Arg, Asn или кислую аминокислоту в положении 416; и/или ароматическую аминокислоту His или Lys в положении 421 в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления аминокислотные модификации, которые уменьшают связывание FcγR при связывании с TfR, включают Ala в положении 234 и в положении 235, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке, включают (i) Leu в положении 428 и Ser в положении 434, или (ii) Ser или Ala в положении 434, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc дополнительно содержи мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах

осуществления модифицированный полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63.

В других аспектах, в данном документе предложена тяжелая цепь антитела, содержащая:(a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 человека, или ее фрагмент; и (b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, и мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 70; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70, и (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 75 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 76 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:

76; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 77 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 77. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76, и (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 250 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 251 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 251; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 252 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 252. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 250; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 251, и (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 252. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1, 9, 17 и 81. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 29, 37, 45 и 89. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность

любой из SEQ ID NO: 258, 266, 274 и 282. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 2, 10, 18 и 82. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 30, 38, 46 и 90. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 259, 267, 275 и 283.

В других аспектах, в данном документе предложена тяжелая цепь антитела, содержащая:(a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 человека, или ее фрагмент; и (b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, мутацию типа «выступ» T366W и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 70; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70, и (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи,

имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 75 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 76 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 76; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 77 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 77. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76, и (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61.

[0005] В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 250 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 251 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 251; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 252 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 252. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 250; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 251, и (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 252. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 256.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 3, 11, 19 и 83. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 31, 39, 47 и 91. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 260, 268, 276 и 284. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 4, 12, 20 и 84. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 32, 40, 48 и 92. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 261, 269, 277 и 285.

В других аспектах, в данному документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела и фармацевтически приемлемый носитель.

В других аспектах в данном документе предложен способ трансцитоза вариабельной области антитела, которая способна связывать HER2 человека, или ее антигенсвязывающего фрагмента, через эндотелий, включающий приведение в контакт эндотелия с композицией, содержащей слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, раскрытый в данном документе. В некоторых вариантах осуществления эндотелий представляет собой ГЭБ.

В других аспектах, в данном документе предложен способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции, содержащей слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, раскрытый в данном документе. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой HER2-положительный рак. В некоторых вариантах осуществления HER2-положительный рак представляет собой HER2-положительный рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществленияHER2- положительный рак представляет собой HER2-положительную аденокарциному желудка и/или HER2- положительную аденокарциному гастроэзофагеального соединения. HER2- положительный рак представляет собой метастатический рак.

В других аспектах, в данном документе предложен способ лечения метастазов в

мозг HER2-положительного рака у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции, содержащей слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, раскрытый в данном документе. В некоторых вариантах осуществления HER2-положительный рак представляет собой HER2-положительный рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления HER2-положительный рак представляет собой HER2-положительную аденокарциному желудка и/или HER2-положительную аденокарциному гастроэзофагеального соединения.

[0006] В некоторых вариантах осуществления, вводят комбинацию различных слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела (например, комбинацию слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, которые связываются с поддоменами IV и II HER2). В некоторых вариантах осуществления субъекту вводят первый слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела и второй слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, причем вариабельная область антитела первого слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60 (т.е., слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену IV HER2), и, при этом вариабельная область антитела второго слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62 (т.е., слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену II HER2). В некоторых вариантах осуществления, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену IV HER2 может быть введен отдельно или в комбинации со слитым белком димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену II HER2. В некоторых вариантах осуществления, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену II HER2 может быть введен отдельно или в комбинации со слитым белком димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену IV HER. В определенных вариантах осуществления, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену IV HER2 может быть введен отдельно. В определенных вариантах осуществления, слитый белок димер полипептида Fc-

вариабельная область антитела к поддомену II HER2 может быть введен отдельно.

В некоторых вариантах осуществления, вводят комбинацию различных слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела (например, комбинацию слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, которые связываются с поддоменами II и I HER2). В некоторых вариантах осуществления субъекту вводят первый слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела и второй слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, причем вариабельная область антитела первого слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62 (т.е., слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену II HER2), и, при этом вариабельная область антитела второго слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257 (т.е., слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену I HER2). В некоторых вариантах осуществления, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену II HER2 может быть введен отдельно или в комбинации со слитым белком димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену I HER2. В некоторых вариантах осуществления, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену I HER2 может быть введен отдельно или в комбинации со слитым белком димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену II HER. В определенных вариантах осуществления, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену II HER2 может быть введен отдельно. В определенных вариантах осуществления, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену I HER2 может быть введен отдельно.

В некоторых вариантах осуществления, вводят комбинацию различных слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела (например, комбинацию слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, которые связываются с поддоменами IV и I HER2). В некоторых вариантах осуществления субъекту вводят первый слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область

антитела и второй слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, причем вариабельная область антитела первого слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60 (т.е., слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену IV HER2), и, при этом вариабельная область антитела второго слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257 (т.е., слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену I HER2). В некоторых вариантах осуществления, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену IV HER2 может быть введен отдельно или в комбинации со слитым белком димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену I HER2. В некоторых вариантах осуществления, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену I HER2 может быть введен отдельно или в комбинации со слитым белком димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену IV HER. В определенных вариантах осуществления, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену IV HER2 может быть введен отдельно. В определенных вариантах осуществления, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к поддомену I HER2 может быть введен отдельно.

В некоторых вариантах осуществления композиция, содержащая слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела антагонизирует активность HER2. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее не получал терапию против HER2 и/или химиотерапию метастатических заболеваний.

В еще одном аспекте, данное изобретение относится к способу лечения рака или лечения метастазов в мозг рака у субъекта, включающему введение субъекту терапевтически эффективного количества конструкции к HER2, которая связывается с (a) поддоменом I или II HER2 человека и (b) рецептором трансферрина (TfR), в котором конструкция к HER2 конструкция отдельно является терапевтически эффективной для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта конструкция к HER2

содержит вариабельную область антитела, которая связывается с поддоменом I или II HER2 человека. Конструкции к HER2 может содержать модифицированный димер полипептида Fc, содержащий первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR. Например, конструкция к HER2 представляет собой слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела.

В других вариантах осуществления данного аспекта конструкция к HER2 содержит вариабельную область антитела, которая связывает TfR. Например, конструкция HER2 может быть биспецифической конструкцией, содержащей вариабельную область антитела, которая связывается с поддоменом I или II HER2 человека, и вариабельную область антитела, которая связывает TfR.

[0007] В некоторых вариантах осуществления конструкцию к HER2 вводят субъекту в качестве монотерапии. В некоторых вариантах осуществления конструкцию к HER2 вводят в комбинации с химиотерапией или лучевой терапией.

В некоторых вариантах осуществления конструкция к HER2 специально связывается с HER2 и TfR на одной и той же клетке.

В другом аспекте в данное изобретение относится к способу лечения рака или лечения метастазов в мозга рака у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества:

(a) первой конструкции к HER2, которая связывается с поддоменом II HER2 человека; и

(b) второй конструкции к HER2, которая связывается с поддоменом IV HER2 человека,

или

(a) первой конструкции к HER2, которая связывается с поддоменом I HER2 человека; и

(b) второй конструкции к HER2, которая связывается с поддоменом IV HER2 человека,

или

(a) первой конструкции к HER2, которая связывается с поддоменом I HER2 человека; и

(b) второй конструкции к HER2, которая связывается с поддоменом II HER2 человека,

где первая и/или вторая конструкция к HER2 также связывают TfR.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта первая конструкция к

HER2, но не вторая конструкция к HER2, связывает TfR. Первая конструкция к HER2 может специально связываться с TfR и HER2 на одной и той же клетке.

В некоторых вариантах осуществления вторая конструкция к HER2, но не первая конструкция к HER2, связывает TfR. Вторая конструкция к HER2 может специально связываться с TfR и HER2 на одной и той же клетке.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта, первая и/или вторая конструкция к HER2 содержит вариабельную область антитела, которая связывается с поддоменом I, II или IV HER2 человека, и модифицированный димер полипептида Fc, который содержит первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR. В определенных вариантах осуществления первая конструкция к HER2 представляет собой слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела. В определенных вариантах осуществления вторая конструкция к HER2 представляет собой слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела. В определенных вариантах осуществления первая и вторая конструкции к HER2 представляют собой слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела и две вариабельные области легкой цепи антитела, которые связываются с поддоменом II HER2, причем каждая из двух вариабельных областей тяжелой цепи содержит CDR1 (CDR-H1), CDR H2 и CDR H3 тяжелой цепи, и каждая из двух вариабельных областей легкой цепи содержит CDR1 (CDR-L1), CDR L2 и CDR L3 легкой цепи, и, при этом:

(1) CDR-H1 содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с, или имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 75;

(2) CDR-H2 содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с, или имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 76;

(3) CDR-H3 содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с, или имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 77;

(4) CDR-L1 содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с, или имеющую до двух аминокислотных замен

относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 78;

(5) CDR-L2 содержит последовательность, имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 79, и

(6) CDR-L3 содержит последовательность, имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 80.

В некоторых вариантах осуществления слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который связывается с поддоменом II HER2, каждая из двух вариабельных областей тяжелой цепи содержит последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 61 и каждая из двух вариабельных областей легкой цепи содержит последовательность, имеющуюся по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 62.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела и две вариабельные области легкой цепи антитела, которые связываются с поддоменом I HER2, причем каждая из двух вариабельных областей тяжелой цепи содержит CDR1 (CDR-H1), CDR H2 и CDR H3 тяжелой цепи, и каждая из двух вариабельных областей легкой цепи содержит CDR1 (CDR-L1), CDR L2 и CDR L3 легкой цепи, и, при этом:

(1) CDR-H1 содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с, или имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 250;

(2) CDR-H2 содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с, или имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 251;

(3) CDR-H3 содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с, или имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 252;

(4) CDR-L1 содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с, или имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 253;

(5) CDR-L2 содержит последовательность, имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 254, и

(6) CDR-L3 содержит последовательность, имеющую до двух аминокислотных

замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 255.

В некоторых вариантах осуществления слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который связывается с поддоменом I HER2, каждая из двух вариабельных областей тяжелой цепи содержит последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 256 и каждая из двух вариабельных областей легкой цепи содержит последовательность, имеющуюся по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 257.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи и две вариабельные области легкой цепи, которые связываются с поддоном IV HER2,

причем каждая из двух вариабельных областей тяжелой цепи содержит CDR1 (CDR-H1), CDR H2 и CDR H3 тяжелой цепи, и каждая из двух вариабельных областей легкой цепи содержит CDR1 (CDR-L1), CDR L2 и CDR L3 легкой цепи, и, при этом:

(1) CDR-H1 содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с, или имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 69;

(2) CDR-H2 содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с, или имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 70;

(3) CDR-H3 содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с, или имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71;

(4) CDR-L1 содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с, или имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 72;

(5) CDR-L2 содержит последовательность, имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 73, и

(6) CDR-L3 содержит последовательность, имеющую до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 74.

В некоторых вариантах осуществления слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который связывается с поддоменом IV HER2, каждая из двух вариабельных областей тяжелой цепи содержит последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90% идентичности последовательности с аминокислотной

последовательности SEQ ID NO: 59 и каждая из двух вариабельных областей легкой цепи содержит последовательность, имеющуюся по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта сайт связывания TfR в слитом белке димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит модифицированный домен CH3. Модифицированный домен CH3 может быть получен из домена CH3 IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека. Модифицированный домен CH3 может содержать одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или одиннадцать замен в наборе аминокислотных положений, включающем 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 415, 416 и 421 в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный домен CH3 содержит Glu, Leu, Ser, Val, Trp, Tyr или Gln в положении 380; Leu, Tyr, Phe, Trp, Met, Pro или Val в положении 384; Leu, Thr, His, Pro, Asn, Val или Phe в положении 386; Val, Pro, Ile или кислую аминокислоту в положении 387; Trp в положении 388; алифатическую аминокислоту, Gly, Ser, Thr или Asn в положении 389; Gly, His, Gln, Leu, Lys, Val, Phe, Ser, Ala, Asp, Glu, Asn, Arg или Thr в положении 390; кислую аминокислоту, Ala, Ser, Leu, Thr, Pro, Ile или His в положении 413; Glu, Ser, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln или Arg в положении 415; Thr, Arg, Asn или кислую аминокислоту в положении 416; и/или ароматическую аминокислоту His или Lys в положении 421 в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта изобретения конструкции к HER2 связываются с апикальной областью TfR. В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc содержит первый полипептид Fc, содержащий аминокислотные модификации, которые уменьшают связывание FCγR при связывании с TfR. В определенных вариантах осуществления аминокислотные модификации включают Ala в положении 234 и в положении 235, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептидов Fc, которые присутствуют в димере полипептида Fc, содержат аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке. В определенных вариантах осуществления аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке, включают (i) Leu в положении 428 и Ser в положении 434, или (ii) Ser или Ala в положении 434, в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта изобретения первый полипептид Fc дополнительно содержит мутацию типа «выступ» T366W, а второй

полипептид Fc в димере полипептида Fc содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. Например, в некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:63. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 67 и 68.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который связывается с поддоменом II HER2 человека, содержит:

(a) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 38, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 55;

или

(b) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 46, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 55;

или

(c) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 30, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который связывается с поддоменом I HER2 человека, содержит:

(a) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 267, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 290;

или

(b) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 275, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 290;

или

(c) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 259, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 290.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который связывается с поддоменом IV HER2 человека, содержит:

(a) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 10, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 27;

или

(b) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 18, вторую

тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 27;

или

(c) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 2, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 27.

В других вариантах осуществления данного аспекта первая и/или вторая конструкция к HER2 содержит вариабельную область антитела, которая связывает TfR. Например, первая конструкция HER2 может быть биспецифической конструкцией, содержащей вариабельную область антитела, которая связывается с HER2 человека, и вариабельную область антитела, которая связывает TfR. Вторая конструкция HER2 может быть биспецифической конструкцией, содержащей вариабельную область антитела, которая связывается с HER2 человека, и вариабельную область антитела, которая связывает TfR. Обе, и первая, и вторая конструкции к HER2 могут быть биспецифическими конструкциями, содержащими вариабельную область антитела, которая связывается с HER2 человека, и вариабельную область антитела, которая связывает TfR.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта изобретения рак представляет собой HER2-положительный рак молочной железы. HER2-положительный рак может представлять собой HER2-положительную аденокарциному желудка и/или HER2-положительную аденокарциному гастроэзофагеального соединения.

В другом аспекте, данное изобретение относится к способу уменьшения уровня экспрессии TfR на поверхности клетки, посредством приведения в контакт клетки с конструкцией к HER2, которая связывается с (a) поддоменом I, II или IV HER2 человека и (b) рецептором трансферрина (TfR), причем конструкция к HER2 отдельно эффективна для снижения уровня экспрессии TfR на поверхности клетки и, при этом, конструкция к HER2 связывается как с TfR, так и с HER2 на одной и той же клетке. В этом аспекте конструкция к HER2 может представлять собой любую из конструкций, описанных в данном документе, таких как слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела (который содержит вариабельную область антитела, которая способна связываться с HER2 человека, и димер модифицированных полипептидов Fc, который содержит первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR) или биспецифическая конструкция к HER2 (которая содержит вариабельную область антитела, которая способна связываться с HER2 человека и вариабельную область антитела, которая связывает TfR).

В еще одном аспекте, данное изобретение относится к способу связывания

конструкции с TfR и HER2 человека, которые экспрессируются на клетке (например, TfR и HER2, экспрессируемые на одной и той же клетке), включающему приведение в контакт клетки с конструкцией к HER2, которая связывается с (a) поддоменом I, II или IV HER2 и (b) рецептором трансферрина (TfR), причем конструкция к HER2 уменьшает уровень экспрессии TfR на поверхности клетки, когда ячейка контактирует с конструкцией к HER2. В этом аспекте конструкция, которая связывает TfR и HER2 человека может представлять собой любую из конструкций, описанных в данном документе, таких как слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела (который содержит вариабельную область антитела, которая способна связываться с HER2 человека, и димер модифицированных полипептидов Fc, который содержит первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR) или биспецифическая конструкция к HER2 (которая содержит вариабельную область антитела, которая способна связываться с HER2 человека и вариабельную область антитела, которая связывает TfR).

В некоторых вариантах осуществления конструкция к HER2 уменьшает уровень экспрессии TfR на поверхности клетки на по меньшей мере 10% (например, по меньшей мере 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или 50%) когда клетка контактирует со слитым белком.

В некоторых вариантах осуществления конструкция к HER2 содержит вариабельную область антитела, которая связывается с поддоменом I, II или IV HER2 человека. В определенных вариантах осуществления конструкция к HER2 может содержать вариабельную область антитела, которая связывается с поддоменом I, II или IV HER2 человека, и модифицированный димер полипептида Fc, который содержит первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR. Например, конструкция к HER2 может представлять собой слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела. В других вариантах осуществления конструкции к HER2 могут быть биспецифическими конструкциями, содержащими вариабельную область антитела, которая связывается с HER2 человека, и вариабельную область антитела, которая связывает TfR.

В любом из аспектов, описанных в данном документе, в некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой раковую клетку (например, метастатическую раковую клетку). В определенных вариантах осуществления раковая клетка экспрессирует как HER2, так и TfR. В некоторых вариантах осуществления клетка может быть клеткой рака молочной железы (например, HER2-положительной клеткой рака). В

некоторых вариантах осуществления любого из аспектов, описанных в данном документе, клетка представляет собой клетку млекопитающих, такую как клетка человека (например, клетка рака человека).

В любом из аспектов, описанных в данном документе, в некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой клетку млекопитающего, такого как человек. В некоторых вариантах осуществления человек имеет или у человека диагностирован HER2-положительный рак. В определенных вариантах осуществления HER2-положительный рак представляет собой метастатический рак. В конкретных вариантах осуществления, HER2-положительный, метастатический рак имеет метастазы к мозг.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1A и 1B показаны данные Biacore™. На фиг. 1A представлены аффинности связывания с внеклеточным доменом HER2 с использованием анти-HER2_DIV, HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA}, анти-HER2_DII и HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA}. На фиг. 1B представлены аффинности связывания с апикальным hTfR человека с использованием HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} и HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA}.

На фиг. 2 представлен анализ ингибирования роста клеток BT474 с использованием реагента WST1, показывая ингибирование пролиферации раковых клеток на 6 сутки с использованием анти-HER2_DIV, HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA}, комбинации анти-HER2_DIV и анти-HER2_DII, и комбинации HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} и HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA}.

На фиг. 3 представлены данные вестерн-блот анализа, демонстрирующие уменьшение фосфорилированного AKT (P-AKT) в клетках BT474, обработанных анти-HER2_DIV и HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA}.

На фиг. 4 представлен анализ ингибирования роста клеток BT474 с использованием реагента WST1, показывая ответ пролиферации раковых клеток на 6 сутки с использованием анти-HER2_DIV, HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA}, комбинации анти-HER2_DIV и анти-HER2_DII, и комбинации HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} и HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA} в присутствии нейрегулина-1.

На фиг. 5 представлен данные вестерн-блот анализа уровней белка фосфорилированной AKT (p-AKT) в клетках BT474, обработанных анти-HER2_DIV и HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA}, комбинацией анти-HER2_DIV и анти-HER2_DII, и комбинацией HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} и HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA} в присутствии нейрегулина-1.

На фиг. 6 показана активность АЗКЦ в клетках SK-BR-3 с использованием

HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA}.

На фиг. 7A-7C показана противоопухолевая эффективность *in vivo* ATV:HER2-DIV и ATV:HER2-DII в модели ксенотрансплантата опухоли BT474 мыши SCID. На фиг. 7A показана значительно более высокая проницательность роста опухоли у животных, получавших ATV:HER2-DIV + ATV:HER2-DII по сравнению с анти-HER2-DIV + анти-HER2-DII. На фиг. 7B показана зависимость доза-ответ с использованием доз 3, 10 и 20 мг/кг каждого исследуемого продукта показывает, что ATV:HER2-DIV + ATV:HER2-DII более эффективен, чем анти-HER2-DIV + анти-HER2-DII. На фиг. 7C показано, что как анти-HER2-DIV + анти-HER2-DII, так и ATV: HER2-DIV + ATV:HER2-DII значительно снижала уровни pAKT, что согласуется с механизмом, при котором нацеливание на HER2 может аннулировать сигнальный путь PI3K/Akt, который активируется в опухолях HER2^{+}. «ATV» относится к TfR-связывающему полипептиду Fc.

На фиг. 8A-8C показана концентрация в плазме, поглощение мозгом и отношение мозг-плазма TfR$^{mu/hu}$ KI у мышей, получивших ATV:HER2-DIV и ATV:HER2-DII.

На фиг. 9A и 9B представлены анализы ингибирования роста клеток BT474 и клеток OE19 с использованием ATV:HER2-DIV, демонстрирующий, что ATV:HER2-DIV увеличил антипролиферативный эффект по сравнению с анти -HER2_DIV в анти-HER2_DIV устойчивой HER2^{+} линии клеток рака.

[0008] На фиг. 10A и 10b показаны анализы ингибирования роста клеток BT474 и клеток OE19 с использованием ATV: HER2-DII, показывающие, что ATV:HER2-DII имеет превосходное ингибирование роста, по сравнению с анти-HER2-DII, а группы ATV:ctrl и анти-TfR с анти-HER2-DII или без него имеют минимальные эффекты в Her2^{+} линии клеток рака.

На фиг. 11 показан анализ ингибирования роста клеток Oe19c использованием ATV:HER2-DI, показывающий, что ATV:HER2-DI имеет превосходное ингибирование роста по сравнению с анти- HER2-DI в HER2^{+} линии клеток рака.

На фиг. 12 показан анализ ингибирования роста клеток BT474 без NRG1 с использованием ATV:HER2-DIV + ATV:HER2-DII, показывающий, что комбинация ATV:HER2-DIV + ATV:HER2-DII является более мощной в ингибировании роста, чем комбинация анти-HER2-DIV + анти-HER2-DII с NRG1 или без.

На фиг. 13A-13C показана экспрессия TfR на поверхности клеток BT474, обработанных ATV:HER2-DIV, ATV:HER2-DII и комбинацией ATV:HER2-DIV и ATV:HER2-DII. Обработка ATV:HER2-DIV и ATV:HER2-DII улучшала уменьшение экспрессии TfR на поверхности клеток при условиях интернализации (37 °C в течение 30

мин).

Подробное описание сущности изобретения

I. ВВЕДЕНИЕ

Мы разработали конструкции к HER2, которые способны проникать через ГЭБ. В целом, эти конструкции к HER2 содержат вариабельную область антитела, которая способна связываться с HER2 человека (например, поддоменом I, II или IV HER2 человека). В некоторых вариантах осуществления конструкции к HER2 содержит вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2, слитую с модифицированным полипептидом Fc, который был разработан для включения не родного сайта для связывания TfR, которая в данном документе также называется «слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела». Например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела может содержать Fab к HER2, слитый с димером модифицированных полипептидов Fc, который содержит сайт связывания TfR.

В других вариантах осуществления конструкции к HER2 содержит вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например,поддомены I, II или IV HER2 человека) и вариабельную областью антитела, которая способна связывать TfR.

Таким образом, данное изобретение относится, в части, к слитым белкам димер полипептида Fc-вариабельная область антитела и их фрагментам, которые были сконструированы для связывания поддомена IV, поддомена II или поддомена I HER2, которые связывают TFR, имеют уменьшенную эффекторную функцию (например, АЗКЦ или КЗЦ) при связывании с TfR, но все еще сохраняют и проявляют уровень эффекторной функции (например, АЗКЦ или КЗЦ), когда слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела связан с HER2. Данное изобретение также относится, частично к способам доставки терапевтических конструкций к HER2 через ГЭБ и лечению HER2-положительных онкологических заболеваний, а также метастазов ее HER2-положительных онкологических заболеваний. Неожиданно, как описано в данном документе, было обнаружено, что использование комбинации слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, которые нацеливают на поддомены IV и II HER2 более эффективно для ингибирования роста клеток рака молочной железы, чем с помощью комбинации антител к поддомену IV и поддомену II HER2. Кроме того, в некоторых варианта осуществления использование комбинации слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, которые нацеливают на поддомены IV и I HER2 более эффективно для ингибирования роста клеток рака молочной железы, чем с

помощью комбинации антител к поддомену IV и поддомену I HER2. Также, в некоторых вариантах осуществления использование комбинации слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, которые нацеливают на поддомены II и I HER2 более эффективно для ингибирования роста клеток рака молочной железы, чем с помощью комбинации антител к поддомену II и поддомену I HER2.

Более того, использование слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который нацелен на поддомен IV, поддомен II или поддомен I HER2, более эффективно для ингибирования роста клеток рака молочной железы, чем использование антитела к поддомену IV HER2, антитела к поддомену II HER2 или антитела к поддомену I HER2, соответственно. Кроме того, использование слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который нацелен на поддомен IV, поддомен II или поддомен I HER2 отдельно более эффективно для ингибирования роста клеток рака молочной железы, чем использование комбинации антитела к поддомену IV HER2 и антитела к TfR, комбинации антитела к поддомену II HER2 и антитела к TfR или комбинации антитела к поддомену I HER2 и антитела к TfR, соответственно.

В других вариантах осуществления данное изобретение также относится, частично связано к использованию конструкции к HER2, которая содержит вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, поддомен I, II или IV HER2 человека) и вариабельную область, способную связывать TfR, для ингибирования роста клеток рака молочной железы. Использование таких конструкций к HER2, имеющих биспецифичность к HER2 (например, поддомену I, II или IV HER2 человека) и TfR, более эффективны для ингибирования роста клеток рака молочной железы, чем использование антитела к HER2 (например, антитела к поддомену I HER2, антитела к поддомену II HER2 или антитела к поддомену IV HER2) отдельно.

II. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Употребляемые в данном документе формы единственного числа включают ссылки на формы множественного числа, если из контекста явно не следует иное. Таким образом, например, ссылка на «полипептид» может включать две или более таких молекул и т. п.

В контексте данного документа термины «около» и «приблизительно» при использовании для изменения количества, указанного в числовом значении или диапазоне, указывают на то, что числовое значение, а также разумные отклонения от значения, известного специалисту в данной области техники, например ± 20%, ± 10% или ± 5%, находятся в предполагаемом пределе приведенного значения.

Термины «рецептор эпидермального фактора роста человека 2», «HER2»,

«HER2/neu» и «ERBB2» (также известный как CD340, рецептор тирозин-белковой киназы ERBB-2, протонкоген и Neu,) относится к белку тирозин рецептор нкиназы, кодируемому геном *ERBB2* человека, являющемуся членом семейства эпидермального рецептора фактора роста человека (HER/EGFR/ERBB). Амплификация или сверхэкспрессия HER2 играет значительную роль в развитии и прогрессировании определенных агрессивных типов рака, включая рак молочной железы. Неограничивающие примеры нуклеотидных последовательностей HER2 человека изложены в GenBank с номерами NP_001005862, NP_001289936, NP_001289937, NP_001289938 и NP_004448. Неограничивающие примеры аминокислотных последовательностей HER2 человека изложены в GenBank с номерами NP_001005862, NP_001276865, NP_001276866, NP_001276867 и NP_004439.

Внеклеточный домен HER2, который содержит приблизительно 600 аминокислот, содержит четыре поддомена (поддомены I, II, III и IV). Поддомены I и III образуют сайт связывания лиганда. Богатые цистеином поддомены II и IV участвуют в гомодимеризации и гетеродимеризации рецептора. Терапевтические конструкции к HER2 могут связываться с определенными поддоменами (например, поддоменом II или поддоменом IV).

Когда HER2 амплифицируется или сверхэкспрессируется в клетке, клетка называется « HER2-позитивной» или «HER2+». Уровень амплификации HER2 или сверхэкспрессии в HER2-положительной клетке обычно выражается в виде оценки от 0 до 3 (то есть, HER2 0, HER2 1+, HER2 2+ или HER2 3+) с более высокими оценками, соответствующими степени экспрессии.

Методы тестирования HER2 включают иммуногистохимию (ИГХ), флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH), ИФА и методы количественного измерения РНК (например, экспрессия *HER2*), такие как ОТ-ПЦР и анализ MicroArray. Тестирование на HER2 может быть выполнено у субъекта (например, пациента), который рассматривается для анти-HER2 терапии.

[0009] В контексте данного документа термин «конструкция к HER2» относится к конструкции молекулы (например, белка), которая связывается с (a) поддоменом I, II или IV HER2 и (b) рецептором трансферрина (TfR). Конструкция к HER2 может содержать вариабельную область антитела, которая способна связываться с HER2 человека. В некоторых вариантах осуществления конструкция к HER2 представляет собой слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который содержит вариабельную область антитела, которая способна связываться с HER2 человека и димер модифицированных полипептидов Fc, который содержит первый полипептид Fc, который

содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR. В других вариантах осуществления конструкция к HER2 представляет собой биспецифическую конструкцию, которая содержит вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 человека и вариабельную областью антитела, которая связывает TfR. В контексте данного документа конструкции к HER2 могут связываться с поддоменом I, II или IV HER2 человека.

В контексте данного документа термин «анти- HER2-DI», «анти-HER2-DII» или «анти-HER2-DIV» относится к антителу, которое связывается с поддоменом I, II или IV, соответственно, HER2 человека.

В контексте данного документа термин «полипептид Fc» относится к С-концевой области встречающегося в природе полипептида тяжелой цепи иммуноглобулина, который характеризуется укладкой Ig как структурный домен. Полипептид Fc содержит последовательности константной области, включая по меньшей мере домен CH2 и/или домен CH3, и может содержать по меньшей мере часть шарнирной области. Как правило, полипептид Fc не содержит вариабельной области.

«Модифицированный полипептид Fc» относится к полипептиду Fc, который имеет по меньшей мере одну мутацию, *например* замену, делецию или вставку, по сравнению с последовательностью полипептида Fc тяжелой цепи иммуноглобулина дикого типа, но сохраняет общую укладку Ig или структуру нативного полипептида Fc.

В контексте данного документа термин «димер полипептида Fc» относится к димеру двух полипептидов Fc. В некоторых вариантах осуществления димер полипептида Fc способен связывать рецептор Fc (например, FcγR). В димере полипептида Fc два полипептида Fc димеризуются за счет взаимодействия между двумя константными доменами CH3 антитела. В некоторых вариантах осуществления два полипептида Fc могут также димеризировать через одну или более дисульфидных связей, которые образуются между шарнирными доменами двух димеризующихся мономеров доменов Fc. Димер полипептида Fc может представлять собой димер полипептида Fc дикого типа или полипептид модифицированных димеров Fc. Димер полипептида Fc дикого типа образован димеризацией двух полипептидов Fc дикого типа. Димер полипептида Fc может быть гетеродимером или гомодимером.

В контексте данного документа термин «димер модифицированных полипептидов Fc» относится к димеру полипептида Fc, который содержит по меньшей мере один модифицированный полипептид Fc. В некоторых вариантах осуществления димер модифицированных полипептидов Fc содержит два модифицированных полипептида Fc.

Димер модифицированных полипептидов Fc может быть гомодимером (то есть, содержать два одинаковых модифицированных полипептида Fc) или гетеродимером (то есть, содержать два различных полипептида Fc, в которых, по меньшей мере, один из двух полипептидов Fc представляет собой модифицированный полипептид Fc).

«Рецептор трансферрина» или «TfR» в контексте настоящего описания относится к белку рецептора трансферрина 1. Последовательность полипептида рецептора трансферрина 1 человека приведена в SEQ ID NO:102. Также известны последовательности белка трансферринового рецептора 1 других видов (*например,* шимпанзе, номер доступа XP_003310238.1; макака-резуса, NP_001244232.1; собаки, NP_001003111.1; крупного рогатого скота, NP_001193506.1; мыши, NP_035768.1; крысы, NP_073203.1; и курицы, NP_990587.1). Термин «трансферриновыйт рецептор» также включает аллельные варианты иллюстративных эталонных последовательностей, *например,* человеческих последовательностей, которые кодируются геном в хромосомном локусе белка трансферринового рецептора 1. Полноразмерный белок TfR содержит короткую N-концевую внутриклеточную область, трансмембранную область и большой внеклеточный домен. Внеклеточный домен характеризуется тремя доменами: протеазоподобным доменом, спиральным доменом и апикальным доменом. Последовательность апикальной домена рецептора 1 трансферрина человека представлена в SEQ ID NO: 103.

В контексте данного документа, термин «рецептор Fcγ» или «FcγR» относится к одному типу рецепторов Fc, которые классифицируются на основе типа антитела, которые они распознают. FcγR включают несколько членов: FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32), FcγRIIB (CD32), FcγRIIIA (CD16a) и FcγRIIIB (CD16b), которые различаются в их аффинностях антител благодаря различным молекулярным структурам. FcγR связываются с частью Fc антител класса IgG и имеет решающее значение для индуцирования фагоцитоза опсонизированных микроорганизмов. FcγR найдены на поверхности клеток иммунной системы. FcγR ответственны за выявление эффекторных функций иммунной системы и активируются при связывании части Fc антитела с рецептором. FcγR опосредуют иммунные функции, например, связывание с антителами, которые прикреплены к зараженным клеткам или инвазивным патогенам, стимулирующие фагоцитарные или цитотоксические клетки для уничтожения микроорганизмов или инфицированных клеток путем антителподобного фагоцитоза или АЗКЦ.

В контексте данного документа термин «уменьшить связывание FcγR» относится к модифицированному полипептиду Fc или димеру модифицированного полипептида Fc,

который содержит мутации в области CH3 модифицированного полипептида Fc, в котором мутации уменьшают аффинность модифицированного полипептида Fc к FcγR на 0,01% - 90% (например, 0,1%, 0,5%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% или 90%) по сравнению с аффинностью полипептида Fc, который не содержит мутаций для уменьшения связывания FcγR (например, димер полипептида Fc дикого типа). Связывание FcγR может быть измерено с использованием, например, методов поверхностного плазмонного резонанса (ППР) (например, системы Biacore™). В качестве альтернативы, связывание FcγR может быть измерено с использованием функционального анализа, например, анализ АЗКЦ, например, описанного в данном документе (например, анализа уничтожения клеток *in vivo* или *in vitro*). Уменьшение связывания FcγR может быть измерено при измерении димера модифицированных полипептидов Fc для TfR. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc или димер полипептида Fc может иметь сниженное связывание FcγR при связывании с TfR, но ограниченное снижение (например, менее чем 25%, 20%, 15%, 10%, 8%, 5%, 3 %, 2% или 1% снижения) или его отсутствие, когда не связан с TfR).

В контексте данного документа димер модифицированных полипептидов Fc может содержать первый полипептид Fc, который имеет как сайта связывания TfR, так и мутации, которые уменьшают связывание FcγR при связании с TfR и второй полипептид Fc, который не имеет ни сайта связывания TfR, ни мутаций, которые уменьшают связывание FcγR. Таким образом, при взаимодействии TfR, полученный асимметричный димер полипептида Fc, имеющий первый и второй полипептиды Fc, могут иметь общее снижение аффинности для FcγR. Напротив, может быть ограничено (например, как описано выше) или без уменьшения связывания FcγR при не связанной с TfR.

Термин «FcRn» относится к неонатальному рецептору Fc. Связывание полипептидов Fc с FcRn снижает клиренс и увеличивает время полужизни полипептида Fc в сыворотке. Белок FcRn человека представляет собой гетеродимер, который состоит из белка размером примерно 50 кДа, который подобен белку главного комплекса гистосовместимости класса I (MHC), и β2-микроглобулину размером примерно 15 кДа.

В контексте данного документа термин «сайт связывания FcRn» относится к области полипептида Fc, который связывается с FcRn. В IgG человека сайт связывания FcRn, пронумерованный с использованием схемы нумерации EU, включает L251, M252, I253, S254, R255, T256, M428, H433, N434, H435 и Y436. Эти положения соответствуют положениям 21-26, 198 и 203-206 SEQ ID NO:99.

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

В контексте данного документа термин «существенно не истощает популяцию ретикулоцитов» или « существенно не истощает популяцию ретикулоцитов *in vivo*» означает, что истощение популяции ретикулоцитов (например, истощение популяции ретикулоцитов костного мозга или ретикулоцитов в кровотоке) вызванное позитивным по эффекторной функции, связывающим TfR димером полипептида Fc, описанным в данном документе, слитым белком димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, описанным в данном документе, который содержит позитивный по эффекторной функции, связывающий TfR димер полипептида Fc, меньше, чем (например, менее чем 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 8%, 5%, 3 %, 2% или 1%) уменьшение количества ретикулоцитов (например,уменьшение количества ретикулоцитов костного мозга или ретикулоцитов в кровотоке), вызванное контролем, например, соответствующий димер Fc, связывающий TfR, или слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, с полной эффекторной функцией и/или не содержащий мутаций, которые уменьшают связывание FcγR, или антитело, содержащее соответствующий димер Fc, связывающий TfR с полной эффекторной функцией и/или не содержащий мутаций, которые уменьшают связывание FcγR.

Термин «существенно не истощает популяцию ретикулоцитов» или « существенно не истощает популяцию ретикулоцитов *in vivo*» может также означать, что количество или процент оставшихся ретикулоцитов (например,количество оставшихся ретикулоцитов костного мозга или ретикулоцитов в кровотоке) после введения позитивного по эффекторной функции, связывающего TfR димера полипептида Fc, описанного в данном документе, слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, описанного в данном документе, который содержит позитивный по эффекторной функции, связывающий TfR димер полипептида Fc, больше, чем (например, больше на по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или 50%) больше количества или процента оставшихся ретикулоцитов (например, оставшихся ретикулоцитов костного мозга или ретикулоцитов в кровотоке), после введения контроля, (например, соответствующего димера Fc, связывающего TfR, или слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, с полной эффекторной функцией и/или не содержащий мутаций, которые уменьшают связывание FcγR, или антитела, содержащего

соответствующий димер Fc, связывающий TfR с полной эффекторной функцией и/или не содержащий мутаций, которые уменьшают связывание FcγR).

Количество или процент истощения популяции ретикулоцитов (например, истощение популяции ретикулоцитов в костном мозге или в кровотоке), или количество или процент оставшихся ретикулоцитов (например, оставшиеся ретикулоциты в костном мозге или в кровотоке), может быть измерено у мышей с включением TfR ($TfR^{ms/hu}$ KI) (например, мышей с включением апикального домена TfR человека («мышь с включением ^{апикального} hTfR»)), которые сконструированы для замены TfR химерным белком TfR мыши с апикальным доменом человека или примата, отличного от человека, такого как яванский макак. Измерение может быть сделано путем дозирования димера модифицированных Fc или контроля, например, 25-50 мг/кг внутривенно (например, мыши $TfR^{ms/hu}$ KI) и циркулирующие ретикулоциты могут быть измерены через 24часа после дозы цитохимических реакций с использованием системы гематологии Advia 120, как описано в данном документе. Ретикулоциты костного мозга могут быть измерены с использованием флуоресцентной сортировки для определения популяции $Ter119^{+}$, $hCD71^{hi}$ и FSC^{low}, как описано в данном документе.

Термины «домен CH3» и «домен CH2» в контексте данного документа относятся к полипептидам домена константной области иммуноглобулина. В контексте данного документа антитела IgG, полипептид домена CH3 относится к сегменту аминокислот от примерно положения 341 до примерно положения 447, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU, а полипептид домена CH2 относится к сегменту аминокислот примерно с положения 231 до примерно положения 340, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU. Полипептиды доменов CH2 и CH3 также могут быть пронумерованы в соответствии со схемой нумерации IMGT (ImMunoGeneTics), в которой нумерация доменов CH2 составляет 1-110, а нумерация доменов CH3 составляет 1-107, в соответствии с Научной нумерацией диаграмм IMGT (веб-сайт IMGT). Домены CH2 и CH3 являются частью Fc-области иммуноглобулина. В контексте антител IgG область Fc относится к сегменту аминокислот от примерно положения 231 до примерно положения 447, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU. В контексте данного документа термин «область Fc» также может содержать по меньшей мере часть шарнирной области антитела. Иллюстративная последовательность шарнирной области приведена в SEQ ID NO: 104.

Термин «вариабельная область» относится к домену тяжелой цепи или легкой цепи антитела, который происходит от гена вариабельности (V), гена разнообразия (D) или гена

присоединения (J) зародышевой линии (и не происходит из сегмента константного (Cμ и Cδ) гена), и это придает антителу его специфичность связывания с антигеном. Обычно вариабельная область антитела включает четыре консервативных «каркасных» области, перемежающихся с тремя гипервариабельными «определяющими комплементарность областями».

Термины «дикий тип», «нативный» и «встречающийся в природе» по отношению к домену CH3 или CH2 используются в данном документе для обозначения домена, последовательность которого встречается в природе.

Используемый в данном документе термин «мутант», используемый в отношении мутантного полипептида или мутантного полинуклеотида, используется взаимозаменяемо с «вариантом». Вариант по отношению к указанной эталонной последовательности домена CH3 или CH2 дикого типа может включать встречающиеся в природе аллельные варианты. «Не встречающийся в природе» домен CH3 или CH2 относится к варианту или мутантному домену, который не присутствует в клетке в природе и, который получают путем генетической модификации, *например,* с использованием технологии генной инженерии или методик мутагенеза, природного полинуклеотида или полипептида домена CH3 или домена CH2. «Вариант» включает любой домен, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную мутацию по отношению к дикому типу. Мутации могут включать замены, вставки и делеции.

Термин «аминокислота» относится к аминокислотам природного и искусственного происхождения, а также к аналогам аминокислот и имитаторам аминокислот, которые функционируют подобно аминокислотам природного происхождения.

Встречающиеся в природе аминокислоты представляют собой те, которые кодируются генетическим кодом, а также те аминокислоты, которые позднее модифицируются, *например,* гидроксипролин, γ-карбоксиглутамат и O-фосфосерин. Аналоги аминокислот представляют собой соединения, которые обладают сходной базовой химической структурой, как у аминокислот природного происхождения, *т. е.* α углерод, который связан с водородом, карбоксильная группа, аминогруппа и R-группа, *например,* гомосерин, норлейцин, метионина сульфоксид, метионинметилсульфоний. Такие аналоги содержат модифицированные R группы (*например,* норлейцин) или модифицированные пептидные остовы, но сохраняют сходную базовую химическую структуру, как у аминокислот природного происхождения. «Аминокислотные миметики» относятся к химическим соединениям, которые имеют структуру, которая отличается от общей химической структуры аминокислоты, но которая функционирует подобно

природной аминокислоте.

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

Аминокислоты могут называться в данном документе либо своими обычно известными трехбуквенными обозначениями, либо однобуквенными обозначениями, рекомендованными Комиссией по биохимической номенклатуре IUPAC-IUB.

Термины «полипептид» и «пептид» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения полимера из аминокислотных остатков в одной цепи. Термины применяются к полимерам аминокислот, в которых один или более аминокислотных остатков представляют собой искусственный химический имитатор соответствующей встречающейся в природе аминокислоты, а также встречающихся в природе аминокислотным полимерам и не встречающихся в природе полимерам аминокислот. Полимеры аминокислот могут включать полностью L-аминокислоты, полностью D-аминокислоты или смесь L- и D-аминокислот.

Термин «белок» в контексте данного документа относится либо к полипептиду, либо к димеру (*т.е.* двум), либо к мультимеру (*т.е.* трем или более) одноцепочечных полипептидов. Одноцепочечные полипептиды белка могут быть соединены ковалентной связью, *например,* дисульфидной связью или нековалентными взаимодействиями.

Термин «консервативная замена», «консервативная мутация» или «консервативно модифицированный вариант» относится к изменению, которое приводит к замене аминокислоты другой аминокислотой, которая может быть отнесена к категории имеющей аналогичный признак. Примеры категорий консервативных аминокислотных групп, определенных таким образом, могут включать: «заряженную/полярную группу», включая Glu (глутаминовую кислоту или E), Asp (аспарагиновую кислоту или D), Asn (аспарагин или N), Gln (глутамин или Q), Lys (лизин или K), Arg (аргинин или R) и His

(гистидин или H); «ароматическую группу», включая Phe (фенилаланин или F), Tyr (тирозин или Y), Trp (триптофан или W) и (гистидин или H); и «алифатическую группу», включая Gly (глицин или G), Ala (аланин или A), Val (валин или V), Leu (лейцин или L), Ile (изолейцин или I), Met (метионин или M), Ser (серин или S), Thr (треонин или T) и Cys (цистеин или C). Внутри каждой группы также можно выделить подгруппы. Например, группа заряженных или полярных аминокислот может быть подразделена на подгруппы, включая: «положительно заряженную подгруппу», включающую Lys, Arg и His; «отрицательно заряженную подгруппу», включающую Glu и Asp; и «полярную подгруппу», включающую Asn и Gln. В другом примере ароматическая или циклическая группа может быть подразделена на подгруппы, включая: «подгруппу азотного кольца», включающую Pro, His и Trp; и «фенильную подгруппу», включающая Phe и Tyr. В другом дополнительном примере алифатическая группа может быть подразделена на подгруппы, *например,* «алифатическую неполярную подгруппу», включающую Val, Leu, Gly и Ala; и «алифатическую слабополярную подгруппу», включающую Met, Ser, Thr и Cys. Примеры категорий консервативных мутаций включают аминокислотные замены аминокислот в подгруппах, указанных выше, таких как, но не ограничиваясь ими: Lys на Arg или наоборот, так что можно поддерживать положительный заряд; Glu вместо Asp или наоборот, таким образом, чтобы можно было сохранить отрицательный заряд; Ser для Thr или наоборот, таким образом, чтобы можно было сохранить свободный -OH; и Gln для Asn или наоборот, таким образом, чтобы можно было сохранить свободный $-NH_2$. В некоторых вариантах осуществления гидрофобные аминокислоты заменяют встречающуюся в природе гидрофобную аминокислоту, *например,* в активном сайте, чтобы сохранить гидрофобность.

Термины «идентичный» или процент «идентичности» в контексте двух или более полипептидных последовательностей относятся к двум или более последовательностям или подпоследовательностям, которые являются одинаковыми или имеют указанный процент аминокислотных остатков, *например,* по меньшей мере, 60% идентичности, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% или более, которые являются идентичными в указанной области при сравнении и выравнивании для максимального соответствия в окне сравнения или обозначенной области, как измерено с использованием одного алгоритма сравнения последовательностей или путем ручного выравнивания и визуальной проверки.

Для сравнения последовательностей полипептидов, как правило, одна

аминокислотная последовательность действует как эталонная последовательность, с которой сравнивают кандидатную последовательность. Выравнивание может быть выполнено с использованием различных способов, доступных специалисту в данной области техники, *например,* визуального выравнивания или с использованием общедоступного программного обеспечения с использованием известных алгоритмов для достижения максимального выравнивания. Такие программы включают программы BLAST, ALIGN, ALIGN-2 (Genentech, Южный Сан-Франциско, штат Калифорния) или Megalign (DNASTAR). Параметры, используемые для выравнивания для достижения максимального выравнивания, могут быть определены специалистом в данной области техники. Для сравнения последовательностей полипептидных последовательностей для целей данной заявки используется стандартный белок BLAST алгоритма BLASTP для выравнивания двух последовательностей белков с параметрами по умолчанию.

Термины «соответствующий», «определенный со ссылкой на» или «пронумерованный со ссылкой на» при использовании в контексте идентификации данного аминокислотного остатка в полипептидной последовательности относятся к положению остатка указанной эталонной последовательности, когда указанная аминокислотная последовательность максимально выровнена и сравнена с эталонной последовательностью. Таким образом, например, аминокислотный остаток в полипептиде «соответствует» аминокислоте в области SEQ ID NO:99, когда остаток выравнивается с аминокислотой в SEQ ID NO:99 при оптимальном выравнивании с SEQ ID NO:99. Полипептид, который выровнен по эталонной последовательности, не обязательно должен иметь ту же длину, что и эталонная последовательность.

В контексте данного документа термин «специфически связывается» или «селективно связывается» с мишенью, *например,* TfR или FcγR, в отношении к полипептиду, содержащему модифицированный домен CH3, как описано в данном документе, относится к реакции связывания, посредством которой полипептид связывается с мишенью с большей аффинностью, большей авидностью и/или большей продолжительностью, чем он связывается с отличной по структуре мишенью. В типичных вариантах осуществления полипептид имеет по меньшей мере в 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 20 раз, 25 раз, 50 раз, 100 раз, 1000 раз, 10000 раз или более большую аффинность к конкретной мишени, *например,* TfR или FcγR, по сравнению с неродственной мишенью при поведении анализа в тех же условиях анализа аффинности. Термин «специфическое связывание», «специфически связывается с» или «специфичный для» конкретной мишени (*например,* TfR или FcγR) в контексте данного документа может

проявляться, например, молекулой, имеющей константу равновесной диссоциации K_D для мишени, с которой она связывается, *например,* 10^{-4} М или меньше, *например,* 10^{-5} М, 10^{-6} М, 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М или 10^{-12} М. В некоторых вариантах осуществления модифицированный домен CH3 специфически связывается с эпитопом на TfR, который является консервативным среди видов (*например,* структурно консервативным среди видов), *например,* консервативным между видами отличными от человека приматов и людей (*например,* структурно консервативным между отличными от человека приматами и людьми). В некоторых вариантах осуществления полипептид может связываться исключительно с TfR человека.

Термин «аффинность связывания» в контексте данного документа относится к силе нековалентного взаимодействия между двумя молекулами, *например,* одним сайтом связывания на полипептиде и мишенью, *например,* TfR, с которым он связывается. Таким образом, например, термин может относиться к взаимодействиям 1:1 между полипептидом и его мишенью, если иное не указано или не ясно из контекста. Аффинность связывания может быть определена количественно путем измерения константы равновесной диссоциации (K_D), которая относится к константе скорости диссоциации (k_d, время$^{-1}$), разделенной на константу скорости ассоциации (k_a, время$^{-1}$ М$^{-1}$). K_D можно определить путем измерения кинетики образования и диссоциации комплексов, *например,* с использованием способов поверхностного плазмонного резонанса (ППР), *например*, системы Biacore™; анализов кинетического исключения, такие как KinExA®; и биослойной интерферометрии (*например,* с использованием платформы ForteBio® Octet®). В контексте данного документа термин «аффинность связывания» включает не только формальные аффинности связывания, такие как те, которые отражают взаимодействия 1:1 между полипептидом и его мишенью, но также кажущиеся аффинности, для которых рассчитывают K_D, которые могут отражать авидное связывание.

Термины «антигенсвязывающая часть» и «антигенсвязывающий фрагмент» используются в настоящем описании взаимозаменяемо и относятся к одному или более фрагментам вариабельной области антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном (*например,* HER2).Примеры антигенсвязывающих фрагментов включают, но не ограничиваются ими, фрагмент Fab (моновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1), фрагмент $F(ab')_2$ (двухвалентный фрагмент, содержащий два связанных фрагмента Fab с помощью дисульфидного мостика в шарнирной области), одноцепочечной Fv (scFv), дисульфид-связанных Fv (dsFv),

определяющих комплементарность областей (CDR), VL (вариабельная область легкой цепи), VH (вариабельная область тяжелой цепи), нанотела, диатела, каждый из которых связывает антиген через вариабельную область, и другие форматы,раскрытые в Spiess *et al.*, *Mol. Immun.* 67 (2015) 95-106, который включен в данный документ посредством ссылки.

Термин «определяющая комплементарность область» или «CDR» относится к трем гипервариабельным областям в каждой цепи, которые прерывают четыре каркасные области, образованные вариабельными областями легкой и тяжелой цепей. CDR в первую очередь отвечают за связывание антитела с эпитопом антигена. CDR каждой цепи обычно обозначают как CDR1, CDR2 и CDR3, пронумерованные последовательно, начиная с N-конца, и также обычно идентифицируются указанием цепи, в которой находится конкретная CDR. Таким образом, CDR3 VH или CDR-H3 находится в вариабельной области тяжелой цепи антитела, в которой он обнаружен, тогда как CDR1 VL или CDR-L1 представляет собой CDR1 вариабельной области легкой цепи антитела, в которой он обнаружен.

«Каркасные области» или «FR» различных легких или тяжелых цепей относительно консервативны в пределах одного вида. Каркасная область антитела, то есть, объединенные каркасные области составляющих легкой и тяжелой цепей, служит для локализации и выравнивания CDR в трехмерном пространстве. Каркасные последовательности могут быть получены из общедоступных баз данных ДНК или опубликованных ссылок, которые включают последовательности генов антител зародышевой линии. Например, последовательности ДНК зародышевой линии для генов вариабельной области тяжелой и легкой цепей человека можно найти в базе данных вариабельных генов зародышевой линии «VBASE2» для последовательностей человека и мыши.

Аминокислотные последовательности CDR и каркасных областей могут быть определены с использованием различных хорошо известных определений в данной области, *например*, по Kabat, Chothia, международной базы данных ImMunoGeneTics (IMGT), AbM и наблюдаемых контактов антигенов («контакт»).В некоторых вариантах осуществления CDR определяются в соответствии с определением контакта.См., MacCallum et al., J. Mol. Biol., 262:732-745 (1996).В некоторых вариантах осуществления CDR определяются комбинацией определений CDR Kabat, Chothia и контакту.

Термины «субъект», «индивидуум» и «пациент», используемые в данном документе взаимозаменяемо, относятся к млекопитающему, включая, но не ограничиваясь

ими, людей, отличных от человека приматов, грызунов (*например,* крыс, мышей и морских свинок), кроликов, коров, свиней, лошадей и другие виды млекопитающих. В одном варианте осуществления пациент является человеком.

Термины «лечение», «лечить» и тому подобное используются в данном документе для обозначения достижения желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта. «Лечить» или «лечение» может относиться к любым признакам успеха в лечении или облегчении рака (например, HER2-положительного и/или метастатического рака) включая любой объективный или субъективный параметр, такой как ослабление, ремиссия, улучшение выживаемости пациентов, увеличение времени или показателя выживаемости, уменьшение симптомов или чтобы сделать заболевание более терпимым для пациента, замедлить скорость дегенерации или ухудшения или улучшить физическое или психическое состояние пациента. Лечение или облегчении симптомов может основываться на объективных или субъективных параметрах. Эффект лечения можно сравнить с индивидуумом или группой лиц, не получающих лечение, или с тем же пациентом до лечения или в другое время во время лечения.

Термин «фармацевтически приемлемый наполнитель» относится к неактивному фармацевтическому ингредиенту, который является биологически или фармакологически совместимым для применения у людей или животных, такому как, но не ограничиваясь ими, буфер, носитель или консервант.

В контексте данного документа термин «терапевтическое количество» или «терапевтически эффективное количество» конструкции (например, антитела, как описано в данном документе), в контексте данного документа, представляет собой количество конструкции, достаточное для лечения, ослабления, облегчения или уменьшения тяжести симптомов заболевания у субъекта. «Терапевтическое количество» или «терапевтически эффективное количество» конструкции (например, слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелой цепи антитела) может улучшить выживаемость пациентов, увеличить время выживаемости, уменьшать симптомы, обеспечить поражение, болезнь или состояние (например, рак, такой как HER2-положительный и/или метастатический рак) более терпимым, замедляют скорость дегенерации или снижения или улучшения физического или психического благосостояния пациента.

Термин «вводить» относится к способу доставки конструкций, соединений или композиций к желаемому месту биологического действия. Данные способы включают, но не ограничиваются ими, местную доставку, парентеральную доставку, внутривенную

доставку, внутрикожную доставку, внутримышечную доставку, интратекальную доставку, доставку в толстую кишку, ректальную доставку или внутрибрюшинную доставку. В одном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, вводят внутривенно.

III. СЛИТЫЕ БЕЛКИ ДИМЕР ПОЛИПЕПТИДА FC-ВАРИАБЕЛЬНАЯ ОБЛАСТЬ АНТИТЕЛА

В некоторых аспектах в данном изобретении преложены слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, которые способны связываться с эпидермальным фактором роста человека 2 (HER2) и модифицированы для связывания с рецептором трансферрина (TfR), что позволяет использовать слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела для проникновения через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ)). В некоторых вариантах осуществления слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, предложенные в данном документе, сохраняют эффекторную функцию при связывании с HER2, но пониженные эффекторные функции при связывании TfR. Таким образом, слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела способны транспортировать вариабельную область антитела к HER2 (например, что составляет часть домена Fab) через ГЭБ без существенного истощения популяции ретикулоцитов (которые также содержат TfR на поверхности клеток) и по-прежнему проявляют эффекторную функцию, которая может нацеливаться на раковые клетки (например, HER2-положительных раковых клеток или их метастазов).

[0010] В некоторых вариантах осуществления, в данном документе предложены слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела с положительными эффекторными функциями, которые имеют цис-конфигурацию, что означает, что только один (не оба) полипептида Fc в димере полипептидов Fc является модифицированными, чтобы иметь сайт связывания TfR и модификации, которые уменьшают связывание FcγR при связывании с TfR. В этих вариантах осуществления другой полипептид Fc в димере полипептидов Fc не содержит сайта связывания TfR или модификаций, которые существенно снижают связывание FcγR. Транс-конфигурация димеров модифицированных полипептидов Fc относится к димеру полипептидов Fc, в котором один из двух полипептидов Fc содержит сайт связывания TfR, в то время как другой полипептид Fc содержит модификации, например те, что снижают эффекторную функцию, например, при связывании с TfR. Димеры модифицированных полипептидов Fc, имеющие цис-конфигурацию, но не транс-конфигурацию, способны уменьшить

истощение популяции ретикулоцитов в крови и костном мозге.

В некоторых вариантах осуществления слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, предложенные в данном документе, по существу не истощают популяцию ретикулоцитов (например, в костном мозге и/или в кровотоке). В некоторых вариантах осуществления слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, по существу не истощают популяцию ретикулоцитов *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления количество ретикулоцитов после введения слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, меньше, чем количество ретикулоцитов после введения контроля. В некоторых вариантах осуществления контроль представляет собой соответствующий слитый белок димер TfR-связывающего полипептида-вариабельная область антитела с полной эффекторной функцией и/или не содержит мутаций, которые уменьшают связывание FcγR. В некоторых случаях, контроль представляет собой слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, в котором первый полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278 или 280 (т.е., первый полипептид Fc, который специфически связывает TfR, содержащий сайт связывания TfR, но не содержит замены LALA или другие модификации, которые уменьшают связывание FcγR), а второй полипептид Fc не содержит сайт связывания TfR или любые модификации, которые уменьшают связывание FcγR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержит: (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, поддомен II или IV HER2), или ее антигенсвязывающий фрагмент; и (b) димер модифицированного полипептида Fc, содержащий первый полипептид Fc, который содержит модификации для создания сайта связывания TfR. В некоторых вариантах осуществления димер модифицированных полипептидов Fc содержит второй полипептид Fc, который не содержит сайт связывания TfR. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит аминокислотные модификации, которые снижают связывание FcγR при связывании с TfR. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит аминокислотные модификации, которые снижают связывание FcγR при связывании с TfR. В некоторых вариантах осуществления первый и второй полипептиды Fc содержат аминокислотные модификации, которые снижают связывание FcγR при связывании с TfR. В некоторых

вариантах осуществления первый и/или второй полипептиды Fc содержат аминокислотные модификации, которые снижают связывание FcγR при связывании с TfR. В некоторых вариантах осуществления аминокислотные модификации, которые уменьшают связывание FcγR при связывании с TfR, включают Ala в положении 234 и в положении 235, в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc содержат аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления первый и второй полипептид Fc содержат аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке, включают (i) Leu в положении 428 и Ser в положении 434, или (ii) Ser или Ala в положении 434, в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела образует часть домена Fab.

Вариабельные области антител к HER2

Анти-HER2_DIV

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более определяющих комплементарность областей (CDR), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 70; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной

последовательности SEQ ID NO: 72; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 73; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 74.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит два, три, четыре, пять или все шести из (a)-(f). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит CDR1 тяжелой цепи (a), CDR2 тяжелой цепи (b) и CDR3 тяжелой цепи (c). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит CDR1 легкой цепи (d), CDR2 легкой цепи (e) и CDR3 легкой цепи (f). В некоторых вариантах осуществления CDR, имеющей до двух аминокислотных замен, имеет одну аминокислотную замену относительно контрольной последовательности. В некоторых вариантах осуществления CDR, имеющей до двух аминокислотных замен, имеет две аминокислотные замены относительно контрольной последовательности. В некоторых вариантах осуществления до двух аминокислотных замен являются консервативными заменами.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:71; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:72; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:73, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:74.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит два, три, четыре, пять или все шести из (a)-(f). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит CDR1 тяжелой цепи (a), CDR2 тяжелой цепи (b) и CDR3 тяжелой цепи (c). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит CDR1 легкой цепи (d), CDR2 легкой цепи (e) и CDR3 легкой цепи (f).

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую (i) по меньшей мере 75% идентичности последовательности (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности

последовательности) с SEQ ID NO: 59 и (ii) CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, которые идентичны SEQ ID NO: 69, 70 и 71, соответственно; и/или (b) вариабельную область легкой цепи, имеющую (i) по меньшей мере 75% идентичности последовательности (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичности последовательности) к SEQ ID NO: 60 и (ii) CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, которые идентичны SEQ ID NO:72, 73 и 74, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности последовательности (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности) к SEQ ID NO: 59. В некоторых вариантах осуществления вариабельную область антитела включает вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности последовательности (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности) к SEQ ID NO: 60. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела включает вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

Анти-HER2_DII

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более определяющих комплементарность областей (CDR), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90%

идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 75 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 76 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 76; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 77 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 77; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 78 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 78; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 79; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 80.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит два, три, четыре, пять или все шести из (a)-(f). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит CDR1 тяжелой цепи (a), CDR2 тяжелой цепи (b) и CDR3 тяжелой цепи (c). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит CDR1 легкой цепи (d), CDR2 легкой цепи (e) и CDR3 легкой цепи (f). В некоторых вариантах осуществления CDR, имеющей до двух аминокислотных замен, имеет одну аминокислотную замену относительно контрольной последовательности. В некоторых вариантах осуществления CDR, имеющей до двух аминокислотных замен, имеет две аминокислотные замены относительно контрольной последовательности. В некоторых вариантах осуществления до двух аминокислотных замен являются консервативными заменами.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:75; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:76; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:77; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:78; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:79, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:80.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит два, три, четыре, пять или все шести из (a)-(f). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит CDR1 тяжелой цепи (a), CDR2 тяжелой цепи (b) и CDR3 тяжелой цепи (c). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит CDR1 легкой цепи (d), CDR2 легкой цепи (e) и CDR3 легкой цепи (f).

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую (i) по меньшей мере 75% идентичности последовательности (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности) с SEQ ID NO: 61 и (ii) CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, которые идентичны SEQ ID NO: 75, 76 и 77, соответственно; и/или (b) вариабельную область легкой цепи, имеющую (i) по меньшей мере 75% идентичности последовательности (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичности последовательности) к SEQ ID NO: 62 и (ii) CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, которые идентичны SEQ ID NO:78, 79 и 80, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности последовательности (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности) к SEQ ID NO: 61. В некоторых вариантах осуществления вариабельную область антитела включает вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности последовательности (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности) к SEQ ID NO: 62. В

некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела включает вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62.

Анти-HER2_DI

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более определяющих комплементарность областей (CDR), выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 250 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 251 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 251; (c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 252 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 252; (d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 253 или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 253; (e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 254; и (f) CDR3 легкой цепи, имеющий до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 255.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит два, три, четыре, пять или все шести из (a)-(f). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит CDR1 тяжелой цепи (a), CDR2 тяжелой цепи (b) и CDR3 тяжелой цепи (c). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит CDR1 легкой цепи (d), CDR2 легкой цепи (e) и CDR3 легкой цепи (f). В некоторых вариантах осуществления CDR, имеющей до двух аминокислотных замен, имеет одну аминокислотную замену относительно контрольной последовательности. В некоторых вариантах осуществления CDR, имеющей до двух аминокислотных замен,

имеет две аминокислотные замены относительно контрольной последовательности. В некоторых вариантах осуществления до двух аминокислотных замен являются консервативными заменами.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из: (a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:250; (b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251; (c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:252; (d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:253; (e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:254, и (f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:255.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит два, три, четыре, пять или все шести из (a)-(f). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит CDR1 тяжелой цепи (a), CDR2 тяжелой цепи (b) и CDR3 тяжелой цепи (c). В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит CDR1 легкой цепи (d), CDR2 легкой цепи (e) и CDR3 легкой цепи (f).

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую (i) по меньшей мере 75% идентичности последовательности (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности) с SEQ ID NO: 256 и (ii) CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, которые идентичны SEQ ID NO: 250, 251 и 252, соответственно; и/или (b) вариабельную область легкой цепи, имеющую (i) по меньшей мере 75% идентичности последовательности (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичности последовательности) к SEQ ID NO: 257 и (ii) CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, которые идентичны SEQ ID NO:253, 254 и 255, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности последовательности (например, по

меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности) к SEQ ID NO: 256. В некоторых вариантах осуществления вариабельную область антитела включает вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности последовательности (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности) к SEQ ID NO: 257. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела включает вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

Иллюстративные слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела

Слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, описанные в данном документе, могут содержать любую комбинацию областей вариабельных областей к HER2, описанных выше. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит сайт связывания TFR, который содержит модифицированный домен CH3. Неограничивающие примеры модифицированных доменов CH3, которые можно использовать в композициях и способах, описаны в данном документе, описаны в разделе «полипептиды Fc, связывающие TfR». В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит мутацию типа «выступ» T366W, а второй полипептид Fc содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности SEQ ID NO: 63. В некоторых случаях первый полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63. В

некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с SEQ ID NO: 67 или 68. В некоторых случаях второй полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 67 и 68.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит мутацию «типа ручки» T366W, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности SEQ ID NO: 64. В некоторых случаях первый полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с SEQ ID NO: 65 или 66. В некоторых случаях второй Fc содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65 и 66.

В других вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A и мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU и не содержит сайт связывания TfR или любые модификации, которые уменьшают связывание FcγR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 2, 10, 18 и 82. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-

вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 30, 38, 46 и 90. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 259, 267, 275 и 283. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 290. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутацию типа «выступ» T366W и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 4, 12, 20 и 84. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую

аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 32, 40, 48 и 92. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 261, 269, 277 и 285. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 290. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержит (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, и мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 2, 10, 18 и 82. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 30, 38, 46 и 90. В некоторых

вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 259, 267, 275 и 283. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 291. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержит: (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутацию типа «выступ» T366W и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 4, 12, 20 и 84. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 32, 40, 48 и 92. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область

антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 261, 269, 277 и 285. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 291. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366W, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 6, 14, 22 и 86. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 34, 42, 50 и 94. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53. В некоторых вариантах осуществления слитый белок

димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 263, 271, 279 и 287. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 294. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации типа «впадина» T366S, L368A, и Y407V, и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 8, 16, 24 и 88. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 36, 44, 52 и 96. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи,

содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 265, 273, 281 и 289. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 294. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366W и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 6, 14, 22 и 86. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 34, 42, 50 и 94. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 263, 271, 279 и 287. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 295. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержит: (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутацию типа «выступ» T366W и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 8, 16, 24 и 88. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 36, 44, 52 и 96. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-

вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 265, 273, 281 и 289. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 295. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR и мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU и не содержит сайт связывания TfR.

[0011] В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1, 9, 17 и 81. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 29, 37, 45 и 89. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 258, 266, 274 и 282. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная

область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 290. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, мутацию типа «выступ» T366W и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 3, 11, 19 и 83. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 31, 39, 47 и 91. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 260, 268, 276 и 284. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 290. В некоторых вариантах осуществления слитый

белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержит (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR и мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1, 9, 17 и 81. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 29, 37, 45 и 89. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 258, 266, 274 и 282. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 291. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержит: (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, мутацию типа «выступ» T366W и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 3, 11, 19 и 83. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 31, 39, 47 и 91. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 260, 268, 276 и 284. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 291. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-

вариабельная область антитела содержит (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR и мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366W, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 5, 13, 21 и 85. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 33, 41, 49 и 93. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 262, 270, 278 и 286. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 294. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт

связывания TfR, мутации типа «впадина» T366S, L368A, и Y407V, и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 7, 15, 23 и 87. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 35, 43, 51 и 95. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 264, 272, 280 и 288. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 294. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, и мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина»

T366W и аминокислотную модификацию N434S с или без M428L, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 5, 13, 21 и 85. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 33, 41, 49 и 93. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 262, 270, 278 и 286. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 295. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержит: (a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент; (b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и (c) второй полипептид Fc, который содержит мутацию типа «выступ» T366W и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и не

содержит сайт связывания TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 7, 15, 23 и 87. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 35, 43, 51 и 95. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 264, 272, 280 и 288. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димера полипептид Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 295. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:293.

Тяжелые цепи антитела

В других аспектах, в данном документе предложены тяжелые цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 (например, HER2 человека), или ее фрагмент; и (b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR. Тяжелые цепи антител могут содержать любую CDR вариабельной области тяжелой цепи антитела к HER2 и/или последовательности вариабельной области тяжелой цепи, описанных ранее, в разделе под названием «вариабельные области антител к HER2». Модифицированный полипептид Fc может содержать любой из сайтов

связывания TfR (например, модифицированные домены CH3), описанные в данном документе и/или любые модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке или уменьшают связывание FcγR (например, при связывании с TfR).

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc дополнительно содержи мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности SEQ ID NO: 63. В некоторых случаях модифицированный полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc дополнительно содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности SEQ ID NO: 64. В некоторых случаях модифицированный полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 (например, HER2 человека) или ее фрагмент; и (b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A и мутации типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 2, 10, 18 и 82. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 30, 38, 46 и 90. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 259, 267, 275 и 283.

В других аспектах, в данном документе предложена тяжелая цепь антитела, содержащая:(a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 (например, HER2 человека), или ее фрагмент; и (b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутацию типа «выступ» T366W и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 4, 12, 20 и 84. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь

антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 32, 40, 48 и 92. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 261, 269, 277 и 285.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 (например, HER2 человека) или ее фрагмент; и (b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A и мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 6, 14, 22 и 86. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 34, 42, 50 и 94. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 263, 271, 279 и 287.

В других аспектах, в данном документе предложена тяжелая цепь антитела, содержащая:(a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 (например, HER2 человека), или ее фрагмент; и (b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, аминокислотные модификации L234A и L235A, мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 8, 16, 24 и 88. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 36, 44, 52 и 96. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 265, 273, 281 и 289.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 (например, HER2 человека) или ее фрагмент; и (b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, и мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1, 9, 17 и 81. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 29, 37, 45 и 89. В некоторых вариантах

осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 258, 266, 274 и 282.

В других аспектах, в данном документе предложена тяжелая цепь антитела, содержащая:(a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 (например, HER2 человека), или ее фрагмент; и (b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, мутацию типа «выступ» T366W и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 3, 11, 19 и 83. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 31, 39, 47 и 91. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 260, 268, 276 и 284.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 (например, HER2 человека) или ее фрагмент; и (b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, и мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 5, 13, 21 и 85. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 33, 41, 49 и 93. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 262, 270, 278 и 286.

В других аспектах, в данном документе предложена тяжелая цепь антитела, содержащая:(a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 (например, HER2 человека), или ее фрагмент; и (b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 7, 15, 23 и 87. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 35, 43, 51 и 95. В некоторых вариантах осуществления тяжела цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 264, 272, 280 и 288.

IV. ПОЛИПЕПТИДЫ FC, СВЯЗЫВАЮЩИЕ TFR

В этом разделе описываются модифицированные полипептиды Fc, которые связываются с TfR и способны проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ).

Полипептиды CH3, связывающие TfR

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит модифицированный домен CH3 Ig человека, такой как домен CH3 IgG. Домен CH3 может относиться к любому подтипу IgG, *то есть* IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В контексте антител IgG домен CH3 относится к сегменту аминокислот от примерно положения 341 до примерно положения 447, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU. Положения в домене CH3 в целях определения соответствующего набора аминокислотных положений для связывания TfR определяются со ссылкой на схему нумерации EU, SEQ ID NO: 101 или аминокислоты 111-217 SEQ ID NO: 99, если не указано иное. Замена также определяются со ссылкой на схему нумерации EU или SEQ ID NO: 99, то есть аминокислота считается заменой относительно аминокислоты в соответствующем положении в схеме нумерации EU или SEQ ID NO: 99.

Как указано выше, наборы остатков домена CH3, которые могут быть изменены, приведены в данном документе со ссылкой на схему нумерации EU или SEQ ID NO: 99. Любой домен CH3, *например* домен CH3 IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, может иметь модификации, *например*, аминокислотные замены, в одном или более наборах остатков, которые соответствуют остаткам в указанных положениях в схеме нумерации EU или SEQ ID NO: 99. Положения каждой из последовательностей IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, которые соответствуют любому заданному положению схемы нумерации EU или SEQ ID NO: 99, могут быть легко определены.

Специалист понимает, что домены CH3 других изотипов иммуноглобулинов, например, IgM, IgA, IgE, IgD и т.д., могут быть подобным образом модифицированы путем идентификации аминокислот в тех доменах, которые соответствуют аминокислотным положениям, описанным в данном документе. Также могут быть внесены модификации в соответствующие домены иммуноглобулинов других видов, *например*, отличных от человека приматов, обезьяны, мыши, крысы, кролика, собаки, свиньи, курицы и т.п.

В одном варианте осуществления модифицированный полипептид домена CH3, который специфически связывает TfR, связывается с апикальным доменом TfR на эпитопе, который содержит положение 208 полноразмерной последовательности TfR человека (SEQ NO: 102), что соответствует положению 11 последовательности

апикального домена TfR, человека, приведенной в SEQ ID NO:103. SEQ ID NO: 103 соответствует аминокислотам 198-378 последовательности Uniprotein P02786 TfR-1 человека (SEQ ID NO: 102). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид домена CH3 связывается с апикальной областью TfR на эпитопе, который содержит положения 158, 188, 199, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215 и/или 294 полноразмерной последовательности TfR человека (SEQ ID NO: 102). Модифицированный полипептид домена CH3 может связываться с TfR без блокирования или иного ингибирования связывания трансферрина с рецептором. В некоторых вариантах осуществления связывание трансферрина с TfR по существу не ингибируется. В некоторых вариантах осуществления связывание трансферрина с TfR ингибируется менее чем примерно на 50% (*например,* менее чем примерно на 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5%). В некоторых вариантах осуществления связывание трансферрина с TfR ингибируется менее чем примерно на 20% (*например,* менее чем примерно на 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1%). Иллюстративные полипептиды домена CH3, которые проявляют эту специфичность связывания, включают полипептиды, имеющие аминокислотные замены в положениях 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 415, 416 и 421 в соответствии со схемой нумерацией В EU.

Набор связывания CH3 TfR: 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 415, 416 и 421

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид домена CH3 содержит одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или одиннадцать замен в наборе аминокислотных положений, включающем 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 415, 416 и 421 в соответствии со схемой нумерации EU (набор CH3C). Иллюстративные замены, которые могут быть введены в эти положения, показаны в Таблице 5. Дополнительные замены представлены в Таблице 6. В некоторых вариантах осуществления аминокислота в положении 388 и/или 421 представляет собой ароматическую аминокислоту, например, Trp, Phe или Tyr. В некоторых вариантах осуществления аминокислота в положении 388 представляет собой Trp. В некоторых вариантах осуществления аминокислота в положении 388 представляет собой Gly. В некоторых вариантах осуществления ароматическая аминокислота в положении 421 представляет собой Trp или Phe.

В определенных вариантах осуществления модифицированный полипептид домена CH3 содержит одно, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или одиннадцатых положений, выбранных из следующих: Glu, Leu, Ser, Val, Trp, Tyr или Gln в

положении 380; Leu, Tyr, Phe, Trp, Met, Pro или Val в положении 384; Leu, Thr, His, Pro, Asn, Val или Phe в положении 386; Val, Pro, Ile или кислотная аминокислота в положении 387; Trp в положении 388; алифатическая аминокислота, Gly, Ser, Thr или Asn в положении 389; Gly, His, Gln, Leu, Lys, Val, Phe, Ser, Ala, Asp, Glu, Asn, Arg или Thr в положении 390; кислотная аминокислота, Ala, Ser, Leu, Thr, Pro, Ile или His в положении 413; Glu, Ser, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln или Arg в положении 415; Thr, Arg, Asn или кислотная аминокислота в положении 416; и/или ароматическая аминокислота, His или Lys в положении 421.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид домена CH3, который специфически связывается TfR, имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO: 177-180. В некоторых вариантах осуществления такой модифицированный полипептид домена CH3 содержит аминокислоты в 154-160 и/или 183-191 любой из SEQ ID NO: 177-180. В некоторых вариантах осуществления такой модифицированный полипептид домена CH3 содержит аминокислоты 150-160 и/или 183-191 любой из SEQ ID NO: 177-180. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид домена CH3 содержит аминокислоты 150-160 и/или 183-196 любой из SEQ ID NO: 177-180.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид домена CH3 имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 SEQ ID NO: 99 при условии, что процент идентичности не включает набор положений 154, 156, 157, 158, 159, 160, 183, 186 и 191 SEQ ID NO: 99 (положения 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421 в соответствии со схемой нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид домена CH3 содержит аминокислоты 154-160 и/или аминокислоты 183-191, указанные в любой из SEQ ID NO: 177-180.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид домена CH3 имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO: 177-180, при условии, что по меньшей мере пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать или шестнадцать

положений, которые соответствуют положениям 150, 154, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 183, 184, 185, 186, 191, 194 и 196 любой из SEQ ID NO: 177-180 (положения 380, 384, 386, 384, 388, 389, 390, 391, 392, 413, 414, 415, 416, 421, 424 и 426, в соответствии со схемой нумерации EU) не удалены и не заменены.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид домена CH3 имеет по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO:177-180, а также содержит по меньшей мере пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать или шестнадцать следующих положений: Trp, Tyr, Leu, Gln или Glu в положении 380; Leu, Tyr, Met или Val в положении 384; Leu, Thr, His или Pro в положении 386; Val, Pro или кислая аминокислота в положении 387; ароматическая аминокислота, например, Trp, в положении 388; Val, Ser или Ala в положении 389; Ser или Asn в положении 390; Ser, Thr, Gln или Phe в положении 391; Gln, Phe или His в положении 392; кислая аминокислота, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro в положении 413; Lys, Arg, Gly или Pro в положении 414; Glu или Ser в положении 415; Thr или кислая аминокислота в положении 416; Trp, Tyr, His или Phe в положении 421; Ser, Thr, Glu или Lys в положении 424; и Ser, Trp или Gly в положении 426.

В дополнительных вариантах осуществления связывающий TfR полипептид содержит аминокислоты 157-194, аминокислоты 153-194 или аминокислоты 153-199, любой из SEQ ID NO: 177-180. В дополнительных вариантах осуществления полипептид содержит аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере, 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 157-194 любой из SEQ ID NO: 177-180, или аминокислотами 153-194 или аминокислотами 153-199 любой из SEQ ID NO: 177-180.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит любую из SEQ ID NO: 177-180. В дополнительных вариантах осуществления полипептид может иметь по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% с любой из SEQ ID NO: 177-180.

Сайты связывания FcRn

Полипептид, описанный в данном документе, который можно переносить через ГЭБ, дополнительно может содержать сайт связывания FcRn. В некоторых вариантах

осуществления сайт связывания FcRn находится внутри модифицированного полипептида Fc или его фрагмента.

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

В некоторых вариантах осуществления сайт связывания FcRn имеет один или более аминокислотных остатков, которые являются мутированными, *например,* замещенными, причем мутация(и) увеличивают период полувыведения из сыворотки или существенно не уменьшают период полувыведения из сыворотки (*т.е.* уменьшают период полувыведения из сыворотки не более чем на 25% по сравнению с аналогичным белком, имеющим остатки дикого типа в мутированных положениях при анализе в тех же условиях). В некоторых вариантах осуществления сайт связывания FcRn имеет один или более аминокислотных остатков, которые замещены в положениях 21-26, 198 и 203-206, в котором положения определяются со ссылкой на SEQ ID NO: 99.

В некоторых вариантах осуществления связывающий сайт FcRn содержит одну или более мутаций, относительно нативной последовательности IgG человека, которые расширяют период полужизни в сыворотке модифицированного полипептида. В некоторых вариантах осуществления мутацию, например, замену, вводят в одно или более положений 14-27, 49-54, 77-87, 153-160 и 198-205, как определено со ссылкой на SEQ ID NO: 99 (положения соответствуют положениям 244-257, 279-284, 307-317, 383-390 и 428-435 с использованием нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления одну или более мутаций вводят в положениях 21, 22, 24, 25, 26, 77, 78, 79, 81, 82, 84, 155, 156, 157, 159, 198, 203, 204 или 206, как определено со ссылкой на SEQ ID NO: 99 (положения соответствуют положениям 251, 252, 254, 255, 256, 307, 308, 309, 311, 312, 314, 385, 386, 387, 389, 428, 433, 434 или 436 с использованием нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления мутации вводят в одно, два или три положения 22, 24 и 25, как определено со ссылкой на SEQ ID NO: 99 (положения соответствуют положениям 252, 254 и 256 с использованием нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления мутации представляют собой M22Y, S24T и T26E, как определено со ссылкой на SEQ ID NO:99. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, описанный в

данном документе, дополнительно содержит мутации M22Y, S24T и T26E. В некоторых вариантах осуществления мутации вводят в одно или два положения 198 и 204, как определено со ссылкой на SEQ ID NO: 99 (положения соответствуют положениям 428 и 434 с использованием нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления мутации представляют собой M198L и N204S, как определено со ссылкой на SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе, дополнительно содержит мутацию N204S с M198L или без нее. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит замену в одном, двух или всех трех положениях T307, E380 и N434 в соответствии с нумерации EU (которые соответствуют T77, E150 и N204, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO: 99). В некоторых вариантах осуществления мутации представляют собой T307Q и N434A (SEQ ID NO:99, T77Q и N204A). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутации T307A, E380A и N434A (SEQ ID NO:99, T77A, E150A и N204A). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит замены в положениях T250 и M428 (которые соответствуют T20 и M198, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO:99). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутации T250Q и/или M428L (SEQ ID NO:99, T20Q и M198L). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит замены в положениях M428 и N434 (которые соответствуют M198 и N204, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO:99). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит замены M428L и N434S (которые соответствуют M198L и N204S, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO:99). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит замену N434S или N434A (которые соответствуют N204S или N204A, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO: 99).

V. МУТАЦИИ, КОТОРЫЕ УМЕНЬШАЮТ ЭФФЕКТОРНУЮ ФУНКЦИЮ ИЛИ СВЯЗЫВАНИЕ FCGR

Полипептид Fc, предложенный в данном документе (например, модифицированный для связывания TfR и способный проникать через ГЭБ), может также включать дополнительные мутации для снижения эффекторной функции. Как описано в данном документе, путем введения как сайта связывания TfR, так и мутаций, которые уменьшают, TfR-опосредованное связывание FcγR в тот же полипептид Fc димера полипептидов Fc, можно уменьшить эффекторную функцию при связывании TfR, что приводит к связыванию TfR без существенного истощения популяции ретикулоцитов, но все же

поддерживает и проявляет уровень эффекторной функции (например, АЗКЦ или КЗЦ), когда димер полипептида Fc сливается с терапевтической Fab и связывается с целевым антигеном Fab.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, содержащий модифицированный домен CH3 обладает эффекторной функцией, т.е. способностью индуцировать определенные биологические функции при связывании с рецептором Fc, экспрессируемым на эффекторной клетке, которая опосредует эффекторную функцию. Эффективные клетки включают, без ограничения, моноциты, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, эозинофилы, тучные клетки, тромбоциты, B-клетки, крупные гранулированные лимфоциты, клетки Ланнерганса, натурального клетки (NK) и цитотоксические T-клетки.

Примеры эффекторных функций антитела включают, но не ограничиваются ими, связывание C1q и КЗЦ, связывание рецептора Fc; АЗКЦ, антителозависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз (АЗКФ), понижающую регуляцию рецепторов клеточной поверхности (например, рецептора B-клеток) и активацию B-клеток. Эффекторные функции могут варьироваться в зависимости от класса антител. Например, нативные антитела IgG1 и IgG3 человека могут вызывать активности АЗКЦ и КЗЦ при связывании с подходящим рецептором Fc, присутствующим в клетке иммунной системы; а нативные IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека могут вызывать функции АЗКФ при связывании с подходящим рецептором Fc, присутствующим на иммунной клетке.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, имеющий сайт связывания TfR, как описано в данном документе, может содержать дополнительные модификации, которые уменьшают эффекторную функцию, т.е., уменьшение эффекторной функции при связывании TfR. Уменьшенная эффекторная функция при связывании TfR у димера полипептидов Fc является желательной, поскольку приводит к уменьшению истощения популяции ретикулоцитов, поскольку ретикулоциты также имеют TfR на поверхности клетки. Как подробно описано в данном документе, димер полипептида Fc в цис-конфигурации, т.е., димеры полипептидов Fc, имеющие как сайта связывания TfR, так и мутации, которые уменьшают эффекторную функцию того же полипептиде Fc димера полипептидов Fc, проявляет связывание TfR без существенного истощения популяции ретикулоцитов, но все же поддерживает уровень эффекторной функции (например, АЗКЦ), когда димер полипептида Fc сливается с терапевтической Fab и связывается с целевым антигеном Fab. Наличие эффекторной функции, когда димер полипептида Fc слит с терапевтическим Fab, который связан с целевым антигеном Fab, является

желательным в, например, терапии рака (например, терапии рака мозга).

Иллюстративные мутации полипептида Fc, изменяющие эффекторную функцию, включают, но не ограничиваются ими, замены в домене CH2, например,в положениях, соответствующих 4 и 5 SEQ ID NO: 99 (положения 234 и 235 в соответствии со схемой нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления замены в модифицированном домене CH2 включают ALA в положениях 4 и 5 SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления замены в модифицированном домене CH2 включают ALA в положениях 4 и 5, и Gly в положении 99 SEQ ID NO: 99.

Дополнительные мутации полипептида Fc, которые модулируют эффекторную функцию, включают, помимо прочего, одну или более замен в положениях 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 (схема нумерации EU, которые соответствуют положениям 8, 35, 39, 40, 67, 97 и 99, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO:99). Иллюстративные замены (как пронумерованные с помощью схемы нумерации EU), включают следующие: положение 329 может иметь мутацию, в которой пролин заменяется глицином или аргинином или аминокислотным остатком, достаточно большим, чтобы разрушить границу взаимодействия Fc/рецептор FCγ, которая образована между пролином 329 Fc и остатками триптофана Trp 87 и Trp 110 FcγRIII. Дополнительные иллюстративные замены включают S228P, E233P, L235E, N297A, N297D и P331S. Также могут присутствовать множественные замены, например, L234A и L235A области Fc IgG1 человека; L234A, L235A и P329G области Fc IgG1 человека; S228P и L235E области Fc IgG4 человека; L234A и G237A области Fc IgG1 человека; L234A, L235A и G237A области Fc IgG1 человека; V234A и G237A области Fc IgG2 человека; L235A, G237A и E318A области Fc IgG4 человека; и S228P и L236E области Fc IgG4. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc может иметь одну или более аминокислотных замен, которые модулируют АЗКЦ, например, замены в положениях 298, 333 и/или 334 области Fc, в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления полипептид, описанный в данном документе, может иметь одну или более аминокислотных замен, которые увеличиваются или уменьшают АЗКЦ или могут иметь мутации, которые изменяют связывание C1q и/или КЗЦ.

В конкретных вариантах осуществления полипептид Fc, имеющий сайт связывания TfR, может быть изменен для уменьшения эффекторной функции, то есть уменьшения связывания FcγR. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, имеющий сайт связывания TfR, может содержать мутации L234A и L235A (схема нумерации EU,

которые соответствуют положениям 4 и 5, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO: 99). В других вариантах осуществления полипептид Fc, имеющий сайт связывания TfR, может содержать мутации L234A, L235A и P329G (схема нумерации EU, которые соответствуют положениям 4, 5 и 99, пронумерованным со ссылкой на SEQ ID NO: 99).

VI. ИЗМЕРЕНИЕ ЭФФЕКТОРНОЙ ФУНКЦИИ ИЛИ СВЯЗЫВАНИЕ FCGR

[0012] В данной области техники известны способы анализа аффинности связывания, кинетики связывания и перекрестной реактивности между полипептидом Fc или димером полипептидов Fc и FcγR . Данные способы включают, но не ограничиваются ими, твердофазные анализы связывания (например, анализ ИФА), иммуноосаждение, поверхностный плазмонный резонанс (например, Biacore™ (GE Healthcare, Пискатауэй, штат Нью-Джерси)), анализы кинетического исключения (например, KinExA®), проточную цитометрию, сортировку флуоресцентно-активированных клеток (FACS), биослойную интерферометрию (например, Octet® (FortéBio, Inc., Менло-Парк, штат Калифорния)) и анализ методом вестерн-блоттинга. В некоторых вариантах осуществления ИФА используется для определения аффинности связывания и/или перекрестной реактивности. Методы выполнения анализов ИФА известны в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления изобретения поверхностный плазмонный резонанс (ППР) используется для определения аффинности связывания, кинетики связывания и/или перекрестной реактивности. В некоторых вариантах осуществления тесты кинетического исключения используются для определения аффинности связывания, кинетики связывания и/или перекрестной реактивности. В некоторых вариантах осуществления анализы методом биослойной интерферометрии используются для определения аффинности связывания, кинетики связывания и/или перекрестной реактивности.

АЗКЦ является типом иммунного ответа, в котором антитела связываются с антигенами на поверхности патогенных или опухолевых клеток-мишеней и идентифицируют их для разрушения эффекторными клетками, например, периферическими мононуклеарными клетками крови (например, натуральными киллерами (NK), Т-клетками и В-клетками). Эффекторные клетки, несущие FcγR распознают и связывают область Fc антитела, связанные с клеткой-мишенью. Таким образом, антитела проявляют специфичность в уничтожении клеток-мишеней. КЗЦ инициируется, когда C1q - инициирующий компонент классического пути комплемента, связан с областью Fc антитела, связанных с мишенью антител. Активности АЗКЦ и КЗЦ могут быть определены в стандартных анализах уничтожения клеток *in vivo* или *in vitro*.

Методы определения активностей АЗКЦ и КЗЦ доступны в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления способы могут включать мечение клеток-мишеней радиоактивным элементом, таким как ^{51}Cr или флуоресцентным красителем, такой как кальцеин-АМ. Меченые клетки могут быть инкубированы с антителом и эффекторными клетками, и уничтожение клеток-мишеней посредством АЗКЦ или КЗЦ могут быть обнаружены путем эмиссии радиоактивности или флуоресценции.

Другие анализы для измерения активностей АЗКЦ и КЗЦ включают, например, анализ высвобождения лактатдегидрогеназы (LDH). Когда клеточные мембраны скомпрометируются или повреждаются любым способом, LDH, растворимый, но устойчивый фермент в цитоплазме, выделяется в окружающие внеклеточное пространство. Наличие этого фермента в культуральной среде можно использовать в качестве маркера гибели клеток. Относительные количества живых и мертвых клеток внутри среды могут затем подсчитываться путем измерения количества высвобожденной LDH с использованием колориметрического или фторометрического анализа цитотоксичности LDH.

VII. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МУТАЦИИ В ОБЛАСТИ FC, КОТОРАЯ СОДЕРЖИТ МОДИФИЦИРОВАННЫЙ ПОЛИПЕПТИД ДОМЕНА CH3

Полипептид Fc, как указано в данном документе (например, который модифицирован для связывания TfR и инициирует проникновение через ГЭБ), может также содержать дополнительные мутации, например, для увеличения устойчивости в сыворотке или периода полужизни в сыворотке, для модуляции эффекторной функции, влияния на гликозилирование, уменьшение иммуногенности у людей и/или обеспечения гетеродимеризации выступа и впадины полипептидов Fc.

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

Модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе, также может иметь другие мутации, введенные вне указанных наборов аминокислот, например, для влияния на гликозилирование, для увеличения периода полужизни в сыворотке или, для доменов CH3, чтобы обеспечить выступ и впадину для гетеродимеризации полипептидов, которые включают модифицированный домен CH3. Как правило, способ включает

введение выпуклости («выступ») на границе взаимодействия первого полипептида и соответствующей полости («впадины») на границе взаимодействия второго полипептида, так что выпуклость может быть расположена в полости так, что это способствует образованию гетеродимера и, таким образом, препятствует образованию гомодимера. Выпуклости образуются путем замены небольших боковых цепей аминокислот на границе раздела первого полипептида на более крупные боковые цепи (*например,* тирозин или триптофан). Компенсирующие полости идентичного или подобного размера выпуклостям создаются на границе раздела второго полипептида путем замены больших боковых цепей аминокислот на более мелкие (*например,* аланин или треонин). Такие дополнительные мутации находятся в полипептиде в положениях, которые не оказывают негативного влияния на связывание модифицированного домена CH3 с TfR.

В одном иллюстративном варианте осуществления подход димеризации на основе выступа и впадины, положение, соответствующее положению 136 SEQ ID NO: 99 из первой субъединицы полипептида для димеризации, имеет триптофан вместо нативного треонина, а вторая субъединица димера полипептидов Fc имеет валин в положении, соответствующем положению 177 SEQ ID NO: 99 вместо нативного тирозина. Вторая субъединица полипептида Fc может дополнительно содержать замену, в которой нативный треонин в положении, соответствующем положению 136 SEQ ID NO: 99, заменяется серином, а нативный лейцин в положении, соответствующем положению 138 SEQ ID NO: 99 заменяется аланином.

Модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе, может быть сконструирован с возможностью содержания других модификаций для гетеродимеризации, например, электростатической инженерии контактных остатков на границе раздела CH3-CH3, которые являются естественно заряженными или модификаций гидрофобных пэтчей.

В некоторых вариантах осуществления могут быть внесены модификации для увеличения периода полужизни в сыворотке. Например, в некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе, содержит домен CH2, содержащий Tyr в положении, соответствующем положению 22 SEQ ID NO: 99, Thr в положении, соответствующем 24 SEQ ID NO: 99, а также Glu в положении, соответствующем положению 26 SEQ ID NO: 99. Альтернативно, модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе, может содержать замены M198L и N204S, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99. Альтернативно, модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе, может содержать

замены N204S или N204A, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99.

Иллюстративные полипептиды Fc, содержащие дополнительные мутации

Модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе (например, любой из клонов CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.23 и CH3C.35.23.1.1) может содержать дополнительные мутации, включая мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A, и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A) пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и/или мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, (i) M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99, или (ii) N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99).

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе (например, любой из клонов CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.23 и CH3C.35.23.1.1) может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 177-180. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 177-180, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутацию типа «выступ».

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, раскрытый в данном документе (например, любой из клонов CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.23 и CH3C.35.23.1.1) может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W , пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), , пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:177-180. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 177-180, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутацию типа «выступ» и мутации, которые модулируют эффекторную функцию.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе (например, любой из клонов CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4,

CH3C.35.23 и CH3C.35.23.1.1) может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, (i) M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99, или (ii) N204S с M198L или без нее, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO:99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 177-180. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 177-180, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутацию типа «выступ» и мутации, повышающие стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, раскрытый в данном документе (например, любой из клонов CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.23 и CH3C.35.23.1.1) может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, (i) M22Y, S24T и T26E, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99, или (ii) N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:177-180. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 177-180, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутацию типа «выступ», мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и мутации, повышающие стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе (например, любой из клонов CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.23 и CH3C.35.23.1.1) может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 177-180. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, имеющий

последовательность любой из SEQ ID NO: 177-180, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутации типа «впадина».

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, раскрытый в данном документе (например, любой из клонов CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.23 и CH3C.35.23.1.1) может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:177-180. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 177-180, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутации типа «впадина» и мутации, которые модулируют эффекторную функцию.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе (например, любой из клонов CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.23 и CH3C.35.23.1.1) может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, (i) M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99, или (ii) N204S с M198L или без нее, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO:99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 177-180. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 177-180, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутации типа «впадина» и мутации, повышающие стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, раскрытый в данном документе (например, любой из клонов CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.23 и CH3C.35.23.1.1) может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, (i) M22Y, S24T

и T26E, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99, или (ii) N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:177-180. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 177-180, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутации типа «впадина», мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и мутации, повышающие стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке.

Клон CH3C.35.23.3

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95%, идентичности последовательности с SEQ ID NO:105. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 с мутацией типа «выступ» имеет последовательность SEQ ID NO: 105.

[0013] В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 106 или 107. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 106 или 107.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 108. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 108.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO:99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 109. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 109.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 110 или 111. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 с мутацией типа «выступ», мутациями, которые модулируют эффекторную функцию и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 110 или 111.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 112 или 113. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 112 или 113.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ

ID NO: 99) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95%, идентичности последовательности с SEQ ID NO:114. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 имеет мутации типа «впадина» и последовательность SEQ ID NO: 114.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 115 или 116. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 115 или 116.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 117. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 117.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO:99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 118. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 118.

[0014] В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию

(например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 119 или 120. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 119 или 120.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 121 или 122. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 121 или 122.

Клон CH3C.35.23.4

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95%, идентичности последовательности с SEQ ID NO:123. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 с мутацией типа «выступ» имеет последовательность SEQ ID NO: 123.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 124 или 125. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 124

или 125.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 126. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 126.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO:99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 127. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 127.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 128 или 129. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 128 или 129.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), например,

мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 130 или 131. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 130 или 131.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95%, идентичности последовательности с SEQ ID NO:132. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 имеет мутации типа «впадина» и имеет последовательность SEQ ID NO: 132.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 133 или 134. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 133 или 134.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 135. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 135.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период

полужизни в сыворотке (например, N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO:99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 136. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 136.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 137 или 138. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 137 или 138.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 139 или 140. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 139 или 140.

Клон CH3C.35.23

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95%, идентичности последовательности с SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 с мутацией типа «выступ» имеет последовательность

SEQ ID NO: 141.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 142 или 143. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 142 или 143.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 144. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 144.

[0015] В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO:99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 145. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 145.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 99), и по

меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 146 или 147. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 146 или 147.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 148 или 149. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 148 или 149.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95%, идентичности последовательности с SEQ ID NO:150. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 имеет мутации типа «впадина» и имеет последовательность SEQ ID NO: 150.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 151 или 152. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 151 или 152.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни

в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 153. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 153.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO:99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 154. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 154.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 155 или 156. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 155 или 156.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 99), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 99), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 99), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:

157 или 158. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 157 или 158.

Клон CH3C.35.23.1.1

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутацию типа «выступ» (например,T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95%, идентичности последовательности с SEQ ID NO:159. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 с мутацией типа «выступ» имеет последовательность SEQ ID NO: 159.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 160 или 161. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 160 или 161.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 162. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 162.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO:1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 163. В

некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 163.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 164 или 165. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 164 или 165.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутацию типа «выступ» (например, T136W, пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 166 или 167. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 с мутацией типа «выступ» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 166 или 167.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95%, идентичности последовательности с SEQ ID NO:168. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 имеет мутации типа «впадина» и имеет последовательность SEQ ID NO: 168.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A

и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 169 или 170. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые модулируют эффекторную функцию, имеет последовательность SEQ ID NO: 169 или 170.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 171.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (например, N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO:1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 172. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 172.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (M22Y, S24T и T26E, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 173 или 174. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период

полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 173 или 174.

В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 может иметь мутации типа «впадина» (например, T136S, L138A и Y177V, пронумерованные со ссылкой на SEQ ID NO: 1), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (например, L4A, L5A и/или P99G (например, L4A и L5A), пронумерованную со ссылкой на SEQ ID NO: 1), например, мутации, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке (N204S с M198L или без нее, пронумерованные со ссылкой SEQ ID NO: 1), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO: 175 или 176. В некоторых вариантах осуществления клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «впадина» и мутациями, которые увеличивают стабильность в сыворотке или период полужизни в сыворотке, имеет последовательность SEQ ID NO: 175 или 176.

VIII. ФОРМАТЫ TFR-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид для связывания TfR, описанный в данном документе, является субъединицей димера белка. В некоторых вариантах осуществления димер представляет собой гетеродимер. В некоторых вариантах осуществления димер представляет собой гомодимер. В некоторых вариантах осуществления димер содержит один полипептид Fc, который связывается с рецептором TfR, то есть, является моновалентным для связывания рецептора TfR. В некоторых вариантах осуществления димер содержит второй полипептид, который связывается с рецептором TfR. Второй полипептид может содержать тот же модифицированный полипептид Fc для обеспечения двухвалентного гомодимера белков, или второй модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе, может обеспечить второй сайт связывания рецептора TfR.

Полипептиды, связывающие TfR, описанные в данном документе, и димерные или мультимерные белки, содержащие полипептиды, могут иметь широкий диапазон аффинностей связывания, например, на основе формата полипептида. Например, в некоторых вариантах осуществления полипептид, содержащий модифицированный полипептид Fc, описанный в данном документе, имеет аффинность для TfR в диапазоне от 1 до 10 мкМ. В некоторых вариантах осуществления аффинность может быть измерена в моновалентном формате. В других вариантах осуществления аффинность может быть измерена в бивалентном формате, например, в качестве белкового димера, содержащего модифицированный полипептид Fc.

Способы анализа аффинности связывания, кинетики связывания и перекрестной

реактивности для анализа связывания с , TfR, известны в данной области техники. Данные способы включают, но не ограничиваются ими, твердофазные анализы связывания (например, анализ ИФА), иммуноосаждение, поверхностный плазмонный резонанс (например, Biacore™ (GE Healthcare, Пискатауэй, штат Нью-Джерси)), анализы кинетического исключения (например, KinExA®), проточную цитометрию, сортировку флуоресцентно-активированных клеток (FACS), биослойную интерферометрию (например, Octet® (FortéBio, Inc., Менло-Парк, штат Калифорния)) и анализ методом вестерн-блоттинга. В некоторых вариантах осуществления ИФА используется для определения аффинности связывания и/или перекрестной реактивности. Способы проведения анализов ИФА известны в данной области техники и также описаны в разделе «Примеры» ниже. В некоторых вариантах осуществления изобретения поверхностный плазмонный резонанс (ППР) используется для определения аффинности связывания, кинетики связывания и/или перекрестной реактивности. В некоторых вариантах осуществления тесты кинетического исключения используются для определения аффинности связывания, кинетики связывания и/или перекрестной реактивности. В некоторых вариантах осуществления анализы методом биослойной интерферометрии используются для определения аффинности связывания, кинетики связывания и/или перекрестной реактивности. Связывание FcRn полипептида для связывания TfR также может быть оценено с использованием этих типов анализов. Связывание FcRn обычно анализируют в кислотных условиях, например, при pH от около 5 до около 6.

IX. КОНЪЮГАТЫ БЕЛКОВ, СВЯЗЫВАЮЩИХ TFR

В некоторых вариантах осуществления конструкция к HER2, которая связывает TfR и инициирует перенос через ГЭБ, например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелая цепь антитела, содержащая модифицированный полипептид Fc, описанная в данном документе, может дополнительно содержать часть или полную шарнирную область. Шарнирная область может принадлежать к любому подклассу или изотипу иммуноглобулинов. Иллюстративный шарнир иммуноглобулина представляет собой шарнирную область IgG, такуюкак шарнирная область IgG1, например, шарнирная аминокислотная последовательность IgG1 человека EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:104).

В последующих других вариантах осуществления, конструкция к HER2, описанная в данном документе, (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) может быть слита с пептидом или белком, пригодным для очистки белка, например, FLAG, c-Myc, гемагглютининовыми метками и т.д., глутатион-S-

трансферазой (GST), тиоредоксином, белком A, белком G или мальтоза-связывающим белком (MBP). В некоторых вариантах осуществления метки для очистки могут быть слиты с тяжелой цепью антитела. В некоторых случаях пептид или белок, с которым слита конструкция к HER2, может содержать сайт расщепления протеазы, такой как сайт расщепления для фактора Xa или тромбина. В определенных вариантах осуществления связь расщепляется ферментом, присутствующим в центральной нервной системе.

Неполипептидные агенты также могут быть прикреплены к конструкции к HER2 (слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела). Такие агенты включают цитотоксические агенты, агенты визуализации, молекулы ДНК или РНК, или химическое соединение. В некоторых вариантах осуществления агент может быть терапевтическим или визуализирующим химическим соединением. В некоторых вариантах осуществления агент представляет собой малую молекулу, например, менее 1000 Да, менее 750 Да, или менее 500 Да.

Агент, либо полипептид, либо не-полипептид, может быть прикреплен к N-концевой или C-концевой области слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелой цепи антитела, или прикреплен к любой области слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелой цепи антитела, до тех пор, пока агент не мешает связыванию полипептида для связывания TfR с TfR.

В различных вариантах осуществления конъюгаты могут быть созданы с использованием известных химических сшивающих реагентов и протоколов. Например, существует большое количество химических поперечных связывающих агентов, которые известны специалистам в данной области техники и полезны для сшивания конструкций к HER2 с интересующими агентами. Например, сшивающие агенты являются гетеробифункциональными кросс-линкерами, которые могут быть использованы для поэтапной связи молекул. Гетеробифункциональные кросс-линкеры обеспечивают возможность создавать более специфические методы связи для сопряженных белков, тем самым снижая вхождения нежелательных побочных реакций, таких как гомо-белковые полимеры.

Интересующий агент может быть терапевтическим агентом, включая цитотоксические агенты и тому подобные, или химический фрагмент. В некоторых вариантах осуществления агент может представлять собой пептидную или малую молекулу терапевтического или визуализирующего агента.

X. СОВМЕСТНОЕ НАЦЕЛИВАНИЕ НА TFR И HER2

В дополнение к использованию связывания TfR в качестве средства для включения

доставки через ГЭБ, TfR также высоко экспрессируется в различных онкологических заболеваниях, включая определенные виды $HER2^+$ рака молочной железы. Механизм, с помощью которого раковые клетки приобретают повышенную экспрессию, TfR, вероятно, относится к пролиферации опухолевой клетки и повышению метаболического спроса, такого как поглощение железа. Поскольку, проникающие в мозг, связывающие TfR конструкции к HER2 (например, димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к HER2), описанные в данном документе, содержат часть, связывающую TfR (например, полипептиды Fc, связывающие TfR) для осуществления проникновения через ГЭБ, могут быть дополнительные противоопухолевые эффекты при связывании с $HER2^+$ опухолевыми клетками, которые также экспрессируют TfR. В частности, поскольку эти конструкции к HER2 могут связываться как TfR, так и HER2 (например, связываться с TfR, так и HER2, экспрессированными на одной и той же клетке) одновременно, это может повысить их активность и/или эффективность.

Как продемонстрировано в примерах, мы разработали связывающие TfR слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела и показали, что эти слитые белки способны проникать через ГЭБ, а также транспортировать терапевтические средства через ГЭБ. Кроме того, мы продемонстрировали, что совместное нацеливание на TfR и HER2 (например, поддомен I, II и/или IV HER2) этими слитыми белками усиливают ингибирование роста клеток и уничтожение клеток. В частности, как показано в примерах 11-14, слитые белки были эффективны при увеличении ингибирования роста клеток, когда, в отличие от этого, не было никакого эффекта при нацеливании только на HER2 или при использовании комбинации отдельных молекул к TfR и к HER2 с одной и той же молекулой пригодной для уничтожения клеток в этом контексте. Таким образом результаты эксперимента подтверждают, что одновременное связывание и сшивание TfR и HER2 одной молекулой может усиливать ингибирование роста линий раковых клеток $HER2^+$.

Соответственно, в данном документе предложен способ лечения рака или лечения метастазов в головной мозг рака у субъекта, который включает введение субъекту, терапевтически эффективного количества конструкции к HER2, которая связывается с (a) поддоменом I, II или IV HER2 человека (например, поддоменом I или II HER2 человека) и (b) рецептором трансферрина (TfR), в котором конструкция к HER2 отдельно является терапевтически эффективной для лечения рака. Конструкция к HER2 может быть введена субъекту в качестве монотерапии. В некоторых вариантах осуществления конструкцию к HER2 вводят в комбинации с химиотерапией или лучевой терапией. Конструкция к HER2

может связываться с HER2 и TfR на одной и той же клетке.

В данном документе также раскрыт способ лечения рака или лечения метастазов в мозг рака у субъекта, который включает введение субъекту терапевтически эффективного количества:

(a) первой конструкции к HER2, которая связывается с поддоменом II HER2 человека; и

(b) второй конструкции к HER2, которая связывается с поддоменом IV HER2 человека,

или

(a) первой конструкции к HER2, которая связывается с поддоменом I HER2 человека; и

(b) второй конструкции к HER2, которая связывается с поддоменом IV HER2 человека,

или

(a) первой конструкции к HER2, которая связывается с поддоменом I HER2 человека; и

(b) второй конструкции к HER2, которая связывается с поддоменом II HER2 человека,

где первая и/или вторая конструкция к HER2 также связывают TfR. В некоторых вариантах осуществления данного способа один из первой и второй конструкций к HER2 связывает как HER2, так и TfR.

В некоторых вариантах осуществления конструкция к HER2, которая связывает как HER2, так и TfR, может представлять собой слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который содержит вариабельную область антитела, которая связывается с поддоменом I, II или IV HER2 человека и димер модифицированных полипептидов Fc, который содержит первый полипептид Fc, содержащий модификации, которые создают сайт связывания TfR.

Например, в некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который связывается с поддоменом II HER2 человека, содержит:

(a) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 38, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 55;

или

(b) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 46, вторую

тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 55;

или

(c) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 30, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 55.

Например, в некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который связывается с поддоменом I HER2 человека, содержит:

(a) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 267, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 290;

или

(b) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 275, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 290;

или

(c) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 259, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 290.

Например, в некоторых вариантах осуществления слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который связывается с поддоменом IV HER2 человека, содержит:

(a) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 10, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 27;

или

(b) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 18, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 27;

или

(c) первую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 2, вторую тяжелую цепь, имеющую последовательность SEQ ID NO: 27.

В других вариантах осуществления конструкция к HER2, которая связывается как с HER2, так и с TfR, может быть биспецифической конструкцией, которая содержит вариабельную область антитела, которая связывается с HER2 (например, поддоном I, II или IV HER2) и вариабельную областью антитела , которая связывает TfR.

XI. СПОСОБЫ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТОРНОЙ ФУНКЦИИ

Для некоторых применения желательно ввести модификации которые увеличивают эффекторную функцию (например, АЗКЦ) в конструкции к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) и тяжелые цепи антитела,

описанные в данном документе. Один из способов увеличения эффекторной функции включает создание конструкций к HER2 и/или тяжелых цепей антитела, которые являются афукозилированными или фукозо-дефицитными.

Один из подходов для создания фукозо-дефицитных конструкций к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) и тяжелых цепей антитела состоит в применении аналога фукозы, такого как 2-фторфукоза (2-FF). Аналогии фукозы могут истощать или уменьшать доступность GDP-фукозы, которая представляет собой субстрат, требуемую фукозилтрансферазами для включения фукозы в белки.

Альтнеративный подход для создания фукозо-дефицитных конструкций к HER2 (например, слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) и тяжелых цепей антитела, обычно используемые для коммерческого производства, состоит в том, чтобы использовать клеточные линии с нокаутной альфа-1,6 фукозилтрансферазой (*FUT8*) для экспрессии конструкций к HER2 (например, слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или тяжелых цепей антитела. Неограничивающий пример подходящей линейки клеток нокаутной по *FUT8* является нокаутная по *FUT8* линия клеток яичника китайского хомяка (CHO) от Lonza Biogics. Кроме того, как описано в Mori *et al.* (*Biotechnol. Bioeng.* (2004) 88:901-908; включенном в данный документ посредством ссылки), малая интерферирующая РНК (миРНК) *FUT8* может быть использована для преобразования клеточных линий CHO (например, путем конститутивной экспрессии миРНК *FUT8*) для получения фукозо-дефицитных белков.

XII. МОЛЕКУЛЫ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ, ВЕКТОРЫ ЭКСПРЕССИИ И КЛЕТКИ-ХОЗЯЕВА

Конструкция к HER2 (например, слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) и тяжелые цепи антитела, описанные в данном документе, обычно получают с использованием рекомбинантных методов. Соответственно, выделенные нуклеиновые кислоты, содержащие последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующей любую из конструкций к HER2 или тяжелых цепей антител, описанных в данном документе, а также клетки-хозяева, в которые вводят нуклеиновые кислоты, которые используются для репликации нуклеиновых кислот, кодирующих полипептид и/или для экспрессии конструкции к HER2 или тяжелых цепей антитела. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку, например клетку человека.

В другом аспекте предложены полинуклеотиды, которые содержат нуклеотидную

последовательность, которая кодирует конструкции к HER2 (например, слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или тяжелые цепи антитела. Полинуклеотиды могут быть одноцепочечными или двухцепочечными. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой ДНК. В конкретных вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой кДНК. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой РНК.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включен в конструкцию нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления конструкция является реплицируемым вектором. В некоторых вариантах осуществления вектор выбирают из плазмиды, вирусного вектора, фагмиды, дрожжевого хромосомного вектора и неэписомального вектора млекопитающих.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид функционально связан с одной или более регуляторными нуклеотидными последовательностями в экспрессионной конструкции. В одной серии вариантов осуществления конструкции экспрессии нуклеиновой кислоты адаптированы для применения в качестве библиотеки поверхностной экспрессии. В некоторых вариантах осуществления библиотека адаптирована для поверхностной экспрессии в дрожжах. В некоторых вариантах осуществления библиотека адаптирована для поверхностной экспрессии в фаге. В другой серии вариантов осуществления конструкции экспрессии нуклеиновой кислоты адаптированы для экспрессии конструкции к HER2 (например, слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или тяжелой цепи антитела в системе, которая позволяет выделить полипептид в количестве нескольких миллиграмм или грамм. В некоторых вариантах осуществления, система представляет собой систему экспрессии на основе клеток млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления, система представляет собой систему экспрессии на основе клеток дрожжей.

Экспрессионные носители для изготовления рекомбинантной конструкции к HER2 (например, слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или тяжелой цепи антитела. Например, подходящие векторы включают плазмиды следующих типов: pBR322-производные плазмиды, pEMBL-производные плазмиды, pEX-производные плазмиды, pBTac-производные плазмиды и pUC-производные плазмиды для экспрессии в прокариотических клетках, такие как *E. coli*. pcDNAI/amp, pcDNAI/neo, pRc/CMV, pSV2gpt, pSV2neo, pSV2-dhfr, pTk2, pRSVneo, pMSG, pSVT7, pko-neo и pHyg-производные векторы являются примерами векторов экспрессии млекопитающих, подходящих для трансфекции эукариотических клеток. В качестве альтернативы,

производные вирусов, таких как вирус папилломы крупного рогатого скота (BPV-1), или вирус Эпштейна-Барр (pHEBo, pREP-производные и P205), могут быть использованы для транзиентной экспрессии полипептидов в эукариотических клетках. В некоторых вариантах осуществления может быть желательно экспрессировать рекомбинантную конструкцию к HER2 или тяжелую цепь антитела с использованием системы экспрессии бакуловируса. Примерами таких систем экспрессии бакуловируса включают PVL-производные векторы, (такие как pVL1392, pVL1393 и pVL941), pAcUW-производные векторы (такие как pAcUW1) и pBlueBac-производные векторы. Дополнительные системы экспрессии включают системы экспрессии на основе аденовирусов, аденоассоциированных вирусов и других вирусов.

Векторы могут быть трансформированы в любую подходящую клетку хозяина. В некоторых вариантах осуществления клетки-хозяева, например, клетки, бактерий или дрожжей, могут быть адаптированы для применения в качестве библиотеки поверхностной экспрессии. В некоторых клетках векторы экспрессируются в клетках-хозяевах, чтобы экспрессировать относительно большие количества конструкции к HER2 (например, слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или тяжелой цепи антитела. Такие клетки-хозяева включают клетки млекопитающих, клетки дрожжей, клетки насекомых и прокариотические клетки. В некоторых вариантах осуществления клетки являются клетками млекопитающих, такие как клетка яичника китайского хомяка (CHO), клетка почек новорожденного хомяка (BHK), клетка NS0, клетка Y0, клетка HEK293, клетка COS, клетка Vero или клетка HeLa.

Клетки-хозяин, трансфицированная вектором экспрессии, кодирующим конструкцию к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или тяжелую цепь антитела, может культивироваться в соответствующих условиях, чтобы обеспечить экспрессию конструкции к HER2 или тяжелой цепи антитела. Конструкции к HER2 (например, слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или тяжелые цепи антитела могут быть секретированы и выделены из смеси клеток и среды, содержащих конструкции к HER2 или тяжелые цепи антитела. В качестве альтернативы, конструкция к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или тяжелая цепь антитела может быть сохранена в цитоплазме или в мембранной фракции и при этом клетки собирают, лизируют и конструкцию к HER2 или тяжелую цепь антитела выделяют с использованием желаемого метода.

XIII. ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ

В некоторых аспектах, в данном документе предложены, способы трансцитоза вариабельной области антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент, через эндотелий. В некоторых вариантах осуществления способы включают приведение в контакт эндотелия с композицией, содержащей конструкцию к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела), описанную в данном документе. В некоторых вариантах осуществления эндотелий представляет собой гематоэнцефалический барьер (ГЭБ).

В других аспектах, в данном документе предложены способы лечения рака (например, HER2-положительного рака) у субъекта. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества конструкцию к HER2 (например, слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела), описанную в данном документе. Любое количество HER2-положительных онкологических заболеваний можно лечить в соответствии со способами, предложенными в данном документе. Неограничивающие примеры включают HER2-положительный рак молочной железы, яичника, мочевого пузыря, слюнной железы, эндометрия, поджелудочной железы и немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), а также HER2-положительную аденокарциному желудка и/или HER2-положительную аднокарциному гастроэзофагеального соединения. В некоторых вариантах осуществления HER2-положительный рак представляет собой HER2-положительный рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления HER2-положительный рак представляет собой HER2-положительную аденокарциному желудка и/или HER2-положительную аденокарциному гастроэзофагеального соединения. В некоторых вариантах осуществления HER2-положительный рак представляет собой метастатический рак.

В дальнейших других аспектах, в данном документе предложены способы лечения метастазов рака (например, HER2-положительного рака). В некоторых вариантах осуществления способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества конструкцию к HER2 (например, слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела), описанную в данном документе. В некоторых вариантах осуществления метастазы представляет собой метастазы в головной мозг HER2-положительного рака, описанного выше. В некоторых вариантах осуществления

метастазы представляют собой метастазы в мозг HER2-положительного рака молочной железы. В некоторых вариантах осуществления метастазы представляют собой метастазы в мозг HER2-положительной аденокарцины желудка и/или HER2-положительной аденокарциномы гастроэзофагеального соединения.

В некоторых вариантах осуществления конструкция к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) содержит вариабельную область антитела к поддомену IV HER2. В некоторых вариантах осуществления конструкция к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) содержит вариабельную область антитела к поддомену II HER2. В некоторых вариантах осуществления конструкция к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) содержит вариабельную область антитела к поддомену I HER2. В некоторых вариантах осуществления субъекту вводят как конструкцию к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела), которая содержит вариабельную область антитела к поддомену IV HER2, так и конструкцию к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела), которая содержит вариабельную область антитела к поддомену II HER2. В некоторых вариантах осуществления субъекту вводят как конструкцию к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела), которая содержит вариабельную область антитела к поддомену IV HER2, так и конструкцию к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела), которая содержит вариабельную область антитела к поддомену I HER2. В некоторых вариантах осуществления субъекту вводят как конструкцию к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела), которая содержит вариабельную область антитела к поддомену I HER2, так и конструкцию к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела), которая содержит вариабельную область антитела к поддомену II HER2.

В некоторых вариантах осуществления первый слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела и второй слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела вводят субъекту. В некоторых случаях вариабельная область антитела первого слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60. В

некоторых случаях вариабельная область антитела второго слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62. В некоторых случаях вариабельная область антитела первого слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

В некоторых вариантах осуществления, введение комбинации слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, которые связывают как поддомен IV, так и поддомен II HER2, оказывает большую терапевтическую пользу, чем введение только слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который направлен на поддомен IV или поддомен II. В некоторых вариантах осуществления, введение комбинации слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, которые связывают как поддомен IV, так и поддомен I HER2, оказывает большую терапевтическую пользу, чем введение только слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который направлен на поддомен IV или поддомен I. В некоторых вариантах осуществления, введение комбинации слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, которые связывают как поддомен II, так и поддомен I HER2, оказывает большую терапевтическую пользу, введение только слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который направлен на поддомен II или поддомен I.

В некоторых вариантах осуществления, введение только слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который направлен на поддомен IV HER2, является более эффективным для ингибирования роста клеток рака молочной, чем применение только антитела к поддомену IV HER2. В некоторых вариантах осуществления, введение только слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который направлен на поддомен II HER2, является более эффективным для ингибирования роста клеток рака молочной железы, чем применение только антитела к поддомену II HER2. В некоторых вариантах осуществления, введение только слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который направлен на поддомен I HER2, является более эффективным для ингибирования роста клеток рака молочной железы, чем применение только антитела к поддомену I HER2.

Кроме того, в некоторых вариантах осуществления, введение только слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который направлен на поддомен IV HER2, является более эффективным для ингибирования роста клеток рака молочной, чем применение комбинации антитела к поддомену IV и антитела к TfR. В некоторых вариантах осуществления, введение слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который направлен на поддомен II HER2, было более эффективным для ингибирования роста клеток рака молочной железы, чем применение комбинации антитела к поддомену II и антитела к TfR. В некоторых вариантах осуществления, введение только слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который направлен на поддомен I HER2, было более эффективным для ингибирования роста клеток рака молочной железы, чем применение комбинации антитела к поддомену I и антитела к TfR.

В других вариантах осуществления, применение конструкции к HER2, которая содержит вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2 (например, поддомен I, II или IV HER2 человека) и вариабельную область антитела, которая способна связывать TfR, является более эффективным для ингибирования роста клеток рака молочной железы, чем применение только антитела к HER2 (например, антитела к поддомену I HER2, антитела к поддомену II HER2 или антитела к поддомену IV HER2) или применение отдельных антител к TfR и к HER2 в комбинации (например, антитела к поддомену I HER2, антитела к поддомену II HER2 или антитела к поддомену IV HER2).

В некоторых вариантах осуществления, терапевтическая выгода может включать уменьшение или замедление роста опухоли, уменьшение размера опухоли (например, объема), уменьшение жизнеспособности клеток опухоли, уменьшение количества метастатических поражений, облегчение одного или более признаков или симптомов рака (например, HER2-положительного рака), и/или увеличение выживаемости пациентов. В некоторых вариантах осуществления жизнеспособность клеток опухоли, рост опухоли, размер опухоли и/или количество метастатических поражений уменьшается на по меньшей мере около 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или более.

В некоторых вариантах осуществления конструкция к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) антагонизирует активность HER2. В некоторых вариантах осуществления, активность HER2 ингибируется (например, на по меньшей мере около 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или более).

В некоторых вариантах осуществления субъект ранее не получал терапию против

HER2. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее не получал химиотерапию метастатических заболеваний. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее не получал терапию против HER2 и/или химиотерапию метастатических заболеваний.

В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают введение субъекту одного или более других терапевтических агентов или лекарственных средств. Дополнительные терапевтические агенты или лекарственные средства могут включать, например, химиотерапию, иммунотерапию, лучевую терапию, гормональную терапию, дифференцирующий агент, низкомолекулярное лекарственное средство или их комбинацию

В некоторых вариантах осуществления конструкция к HER2 (например,слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) вводят субъекту в терапевтически эффективном количестве или дозе. Диапазон суточной дозы, который может быть использован составляет от около 0,01 мг/кг до около 500 мг/кг, или от около 0,1 мг/кг до около 200 мг/кг, или от около 1 мг/кг до около 100 мг/кг, или от около 10 мг/кг до около 50 мг/кг. Однако дозировки могут варьироваться в зависимости от нескольких факторов, включая выбранный путь введения, состав композиции, реакцию пациента, тяжесть состояния, вес субъекта и мнение врача, назначающего препарат. Дозировка может быть увеличена или уменьшена с течением времени, как того требует отдельный пациент. В определенных случаях пациенту сначала вводят низкую дозу, которая затем увеличивается до эффективной дозировки, приемлемой для пациента. Определение эффективного количества находится в пределах компетенции специалистов в данной области техники.

Путь введения конструкции к HER2 (например, слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела), описанный в данном документе, может быть пероральным, внутрибрюшинным, трансдермальным, подкожным, внутривенным, внутримышечным, внутривенным, ингаляционным, местным, внутриочаговым, ректальным, внутрибронхиальным, назальным, трансмукозальным, кишечным, посредством введения в глаз или ухо или любым другим способом, известным в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления конструкцию к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) вводят перорально, внутривенно или внутрибрюшинно.

Совместное введение множественных конструкций к HER2 (например, множественных слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или конструкций к HER2 (например, слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная

область антитела) и дополнительного терапевтического агента может быть выполнено вместе или отдельно, одновременно или в разное время. При введении, терапевтические агенты могут независимо вводиться один, два, три, четыре раза в день или более или менее часто, по мере необходимости. В некоторых вариантах осуществления вводимые терапевтические агенты вводят один раз в день. В некоторых вариантах осуществления вводимые терапевтические агенты вводят в одно и то же время, например, в виде смеси. В некоторых вариантах осуществления один или более терапевтических агентов вводят в составе с замедленным высвобождением.

В некоторых вариантах осуществления комбинация множественных конструкций к HER2 (например, множественные слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или комбинацию конструкции к HER2 (например, слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) и другого терапевтического агент вводят одновременно. В некоторых вариантах осуществления агенты вводят последовательно. Например, первый агент (например, первый слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) можно вводить в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 суток или более до введения второго слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или другого агента, или *vice versa*.

В некоторых вариантах осуществления конструкции к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) (и необязательно другой терапевтический агент) вводят субъекту в течение длительного периода времени, например, по меньшей мере 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350 суток или более.

XIV. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ И НАБОРЫ

В другом аспекте предложены фармацевтические композиции и наборы, содержащие конструкцию к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) и/или тяжелую цепь антитела, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции и наборы предназначены для применения в трансцитозе вариабельной области антитела, которая способна связывать HER2 через эндотелий (например, ГЭБ) у субъекта. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции и наборы предназначены для применения при лечении HER2-положительного рака или метастатического поражения (например, у субъекта).

Фармацевтические композиции

В другом аспекте предложены фармацевтические композиции, содержащие

конструкцию к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или тяжелую цепь антитела. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену IV HER2. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену II HER2. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену I HER2. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену IV HER2, и слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену II HER2. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену IV HER2, и слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену I HER2. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену I HER2, и слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену II HER2.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит конструкцию к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или тяжелую цепь антитела, описанные в данном документе, и дополнительно содержит один или более фармацевтически приемлемых носителей и/или эксципиентов. Фармацевтически приемлемый носитель включает любые растворители, дисперсионные среды или покрытия, которые являются физиологически совместимыми и которые предпочтительно не препятствуют или иным образом не препятствуют активности активного агента. Различные фармацевтически приемлемые эксципиенты

хорошо известны в данной области.

В некоторых вариантах осуществления носитель подходит для внутривенного, внутримышечного, перорального, внутрибрюшинного, интратекального, трансдермального, местного или подкожного введения. Фармацевтически приемлемые носители могут содержать одно или более физиологически приемлемых соединений, которые, например, стабилизируют композиции или увеличивают или уменьшают абсорбцию активного агента(ов). Физиологически приемлемые соединения могут включать, например, углеводы, такие как глюкоза, сахароза или декстраны, антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или глутатион, хелатирующие агенты, низкомолекулярные белки, композиции, которые уменьшают клиренс или гидролиз активных агентов, или вспомогательные вещества или другие стабилизаторы и/или буферы. Другие фармацевтически приемлемые носители и их составы хорошо известны в данной области.

Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, могут быть получены способом, который известен специалистам в данной области техники, например, посредством обычных способов смешивания, растворения, гранулирования, приготовления драже, эмульгирования, инкапсулирования, захвата , или лиофилизации. Следующие способы и эксципиенты являются просто примерными и никоим образом не ограничивают данное изобретение.

Для перорального введения конструкция к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или тяжелая цепь антитела может быть получена путем объединения его с фармацевтически приемлемыми носителями, которые хорошо известны в данной области. Такие носители позволяют получить соединения в виде таблеток, пилюль, драже, капсул, эмульсий, липофильных и гидрофильных суспензий, жидкостей, гелей, сиропов, суспензий, суспензий и т.п. для перорального приема пациентом, подлежащим лечению. Фармацевтические препараты для перорального применения могут быть получены путем смешивания соединений с твердым вспомогательным веществом, необязательного измельчения полученной смеси и обработки смеси гранул после добавления подходящих вспомогательных веществ, если желательно, для получения ядер таблеток или драже. Подходящие вспомогательные вещества включают, например, наполнители, такие как сахара, включая лактозу, сахарозу, маннит или сорбит; препараты целлюлозы, такие как, например, кукурузный крахмал, пшеничный крахмал, рисовый крахмал, картофельный крахмал, желатин, трагакантовую камедь, метилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, натриевую соль

карбоксиметилцеллюлозы и/или поливинилпирролидон (PVP). При желании могут быть добавлены дезинтегрирующие агенты, такие как сшитый поливинилпирролидон, агар или альгиновая кислота или ее соль, такая как альгинат натрия.

Конструкция к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или тяжелая цепь антитела могут быть предоставлены для парентерального введения посредством инъекции, например, болюсной инъекции или непрерывной инфузии. Для инъекции соединение или соединения могут быть составлены в препараты путем растворения, суспендирования или эмульгирования их в водном или неводном растворителе, таком как растительные или другие подобные масла, синтетические глицериды алифатических кислот, сложные эфиры высших алифатических кислот или пропиленгликоль; и, если необходимо, с обычными добавками, такими как солюбилизаторы, изотонические агенты, суспендирующие агенты, эмульгирующие агенты, стабилизаторы и консерванты. В некоторых вариантах осуществления соединения могут быть приготовлены в водных растворах, предпочтительно в физиологически совместимых буферах, таких как раствор Хенкса, раствор Рингера или физиологический солевой буфер. Составы для инъекций могут быть представлены в стандартной лекарственной форме, *например*, в ампулах или в контейнерах с множеством доз, с добавленным консервантом. Композиции могут принимать такие формы, как суспензии, растворы или эмульсии в масляных или водных носителях, и могут содержать формулирующие агенты, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие агенты.

Обычно фармацевтическая композиция для применения *in vivo* стерильна. Стерилизация может быть выполнена способами, известными в данной области техники, *например* тепловой стерилизацией, стерилизацией паром, стерильной фильтрацией или облучением.

Дозировки и желаемая концентрация лекарственного средства в фармацевтических композициях по настоящему изобретению могут варьироваться в зависимости от предполагаемого конкретного применения. Определение подходящей дозировки или пути введения находится в компетенции специалиста в данной области. Подходящие дозировки также описаны в данном документе.

Наборы

В некоторых вариантах осуществления, предложены наборы, содержащие конструкцию к HER2 (например, слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела) или тяжелую цепь антитела, описанные в данном документе (например,

описанные выше), или фармацевтическую композицию, описанную в данном документе. В некоторых вариантах осуществления наборы содержат слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену IV HER2. В некоторых вариантах осуществления наборы содержат слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену II HER2. В некоторых вариантах осуществления наборы содержат слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену I HER2. В некоторых вариантах осуществления наборы содержат слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену IV HER2, и слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену II HER2. В некоторых вариантах осуществления наборы содержат слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену IV HER2, и слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену I HER2. В некоторых вариантах осуществления наборы содержат слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену I HER2, и слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела или тяжелую цепь антитела, которые содержат вариабельную область антитела к поддомену II HER2. В некоторых вариантах осуществления наборы предназначены для применения в трансцитозе вариабельной области антитела, которая способна связывать HER2 через эндотелий (например, ГЭБ) у субъекта. В некоторых вариантах осуществления наборы предназначены для применения при лечении HER2-положительного рака или метастатического поражения (например, у субъекта).

В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит информационные материалы, содержащие инструкции (*m.e.* протоколы) по применению описанных в данном документе способов (например, инструкции по применению содержимого набора для лечения рака, такого как HER2-положительный рак, или метастатического поражения, вызванного им). Хотя инструкции обычно включают письменные или печатные материалы, они не ограничиваются таковыми. Предусмотрен

любой носитель информации, способный хранить такие инструкции и передавать их конечному пользователю. Такие носители информации включают, но не ограничиваются ими, электронные носители данных (например, магнитные диски, ленты, картриджи, чипы), оптические носители (например, CD-ROM) и тому подобное. Такие средства информации могут включать адреса интернет-сайтов, которые предоставляют такие учебные материалы.

XV. ПРИМЕРЫ

Следующие примеры включены для демонстрации конкретных вариантов осуществления данного изобретения. Специалистам в данной области техники должно быть понятно, что методики, раскрытые в следующих примерах, представляют собой методики, которые хорошо функционируют при практическом осуществлении данного описания, и, таким образом, могут рассматриваться как составляющие конкретные способы для его практического применения. Однако специалистам в данной области техники в свете настоящего раскрытия должно быть понятно, что в конкретных раскрытых вариантах осуществления может быть выполнено множество изменений, и все же может быть получен тот же или аналогичный результат без отклонения от сущности и объема раскрытия.

Пример 1. Получение гибридных белков полипептид Fc-димер-Fab, имеющих конфигурацию Cis LALA с сайтами связывания HER2 против поддоменов II и IV.

Мы сконструировали TfR-связывающий полипептид, в котором димеры полипептида Fc содержат мутацию LALA в одном полипептиде Fc в цис-конфигурации. Этот TfR-связывающий полипептид был способен ослаблять истощение популяции ретикулоцитов в крови и костном мозге у мышей, что ранее наблюдалось в TfR-связывающем полипептиде с IgG ДТ. Важно отметить, что при связывании с мишенью Fab TfR-связывающий полипептид, имеющий конфигурацию цис-LALA, был способен вызывать *in vitro* опосредованные Fab-мишенью АЗКЦ и КЗЦ, а также вызывать иммунный ответ эффекторной функции *in vivo* в отношении интересующей мишени. Основываясь на этих результатах, мы рационализируем, что эта молекула может быть спарена со специфическими ветвями Fab и стать терапевтическим средством, проникающим в мозг, которое может как сохранять безопасность ретикулоцитов, так и вызывать эффекторную функцию в отношении интересующей терапевтической мишени.

В этом примере, а также в примерах 2-5 ниже были созданы слитые белки димера полипептида Fc и вариабельной области антитела, в которых сайты связывания HER2 были сконструированы в ветви Fab TfR-связывающего полипептида. Лечение HER2-

положительного рака молочной железы было очень успешным с помощью терапии с использованием анти-HER2_DIV (содержащего тяжелую и легкую цепи, имеющие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 97 и 57, соответственно) и анти-HER2_DII (содержащего тяжелую и легкую цепи, имеющие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 98 и 58, соответственно).

Слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная области антитела, использованные в этом примере и примерах 2-5 ниже, были получены с сайтами Fab связывания HER2, слитыми с модифицированным димером полипептида Fc, имеющим первый полипептид Fc, который был TfR-связывающим полипептидом (CH3C.35.23.1.1, имеющий мутацию LALA) и второй полипептид Fc, у которого не было сайта связывания TfR или каких-либо модификаций, снижающих связывание FcγR - эти конструкции к HER2 называются HER2-35.23.1^{cisLALA}. В частности, конструкция поддомена IV анти-HER2 HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA}, представлял собой слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, имеющий первую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 2, вторую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 27, и две легкие цепи, содержащие SEQ ID NO: 57, и конструкция поддомена II анти-HER2, HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA}, представляла собой слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, имеющий первую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 30, вторую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 55, и две легкие цепи, содержащие SEQ ID NO: 58.

Чтобы подтвердить, что присутствие сайта связывания TfR в Fc не изменяет аффинность связывания для HER2, мы определили коэффициент связывания (K_D) к белку внеклеточного домена HER2 с использованием Biacore™. Как и ожидалось, аффинность связывания для HER2 с использованием белка внеклеточного домена не была изменена в Т слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, который имел либо HER2-связывающие последовательности против поддомена IV, либо II HER2 в ветви Fab (фиг. 1A и таблица 1). Эти результаты сравнивали с аффинностями связывания анти-HER2_DIV и анти-HER2_DII.

Таблица 1. Аффинности связывания внеклеточного домена HER2.

Молекула	Изотип	K_D (нМ)
анти-HER2_DIV	huIgG1	1,2
35.23.1.1:HER2_DIV	huIgG1	0,8
35.23.1.1:HER2_DIV	huIgG1.LALA.knob	1,1
35.23.1.1:HER2_DIV	huIgG1.LALA	0,8
анти-HER2_DII	huIgG1	2,0

35.23.1.1:HER2_DII	huIgG1.LALA.knob	1,5

Чтобы подтвердить, что добавление сайтов связывания HER2 не изменяет аффинность связывания для TfR в TfR-связывающем домене в полипептиде Fc, мы также сравнили аффинности связывания TfR различных слитых белков димера полипептид Fc-вариабельная область антитела. Аффинность к TfR существенно не различалось между HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} и HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA} (601 нМ и 620 нМ, соответственно) (фиг. 1B и таблица 2).

Таблица 2. Аффинности связывания для апикального hTfR.

Молекула	Изотип	K_D (нМ)
ATV35.23.1.1:Her2_DIV	huIgG1	626
ATV35.23.1.1:Her2_DIV	huIgG1.LALA.knob	601
ATV35.23.1.1:Her2_DIV	huIgG1.LALA	607
ATV35.23.1.1:Her2_DII	huIgG1.LALA.knob	620

Пример 2. Ингибирование BT474 слитыми белками димер полипептид Fc-Fab, имеющими сайты Fab связывания с HER2.

Способность HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} ингибировать пролиферацию раковых клеток оценивали на HER2-положительной клеточной линии рака молочной железы. Клетки BT474 высевали в течение ночи из расчета 10000 клеток/лунку в 96-луночный планшет, обрабатывая 60 мкл серийного разведения 1:3 интересующих молекул, начиная с 25000 нг/мл. Среда и лекарственные средства пополнялись на 3 сутки. На 6 сутки определяли рост клеток, используя 5 мкл реагента WST-1 в 50 мкл ростовой среды. Планшет инкубировали в течение 4 часов в присутствии реагента WST-1 и оптическую плотность определяли при 440 нм. Процент ингибирования роста/пролиферации нормализовали к необработанному контролю.

HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} обладают способностью подавлять рост клеток BT474 аналогично анти-HER2_DIV. Добавление сайта связывания TfR в Fc не влияло на степень ингибирования роста (фиг. 2 и таблица 3).

Таблица 3. Значения IC_{50} для анализа ингибирования роста BT474.

Молекула	IC_{50} (нМ)
анти-HER2_DIV	1,30 ± 0,22
35.23.1.1^{cisLALA}:HER2_DIV	0,986 ± 0,30
анти-HER2_DIV+ анти-Her2_DII	1,66 ± 0,18

35.23.1.1^{cisLALA}:Her2_DIV + 35.23.1.1^{cisLALA}:Her2_DII	0,500 ± 0,056

Пример 3. Снижение уровней белка pAKT в HER2-положительной линии клеток рака молочной железы BT474.

Известно, что амплификация HER2 нарушает регуляцию дальнейшего сигнального пути PI3K/Akt. Низкомолекулярные ингибиторы или антитела, нацеленные на HER2, снижают фосфорилированный AKT (pAKT) и предотвращают активацию EGFR и последующие механизмы передачи сигналов в HER2-положительных клетках рака молочной железы. Снижение уровня белка pAKT служит полезным показателем для определения поражения цели. Важно отметить, что анти-HER2_DIV значительно снижает уровень белка pAkt в различных клеточных линиях рака молочной железы, включая BT474. Напротив, в опухолях с повышенным уровнем pAkt наблюдается также повышенная устойчивость к лечению анти-HER2_DIV.

Иммуноблоттинг был использован для оценки уровня экспрессии белка pAKT в BT474 после обработки HER2_DIV-35.23.11^{cisLALA}. Клетки BT474 высевали в течение ночи в количестве 100000-200000 клеток/лунку в 24-луночный планшет. Клетки обрабатывали при 50 мкг/мл в течение 2 часов, дважды промывали ФСБ и собирали лизат с использованием буфера RIPA с полным ингибитором протеазы. В каждую лунку добавляли 8 мкл лизата белка, и белки подвергали блоттингу и анализировали с использованием анти-pAKT, анти-AKT и анти-b-актина в соотношении 1:1000. Полосы были визуализированы и проанализированы с использованием системы визуализации Li-CORE.

В соответствии со свойствам ингибирования роста в клетках BT474, HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} значительно снижал уровни белка pAKT по сравнению с необработанным контролем (фиг. 3). Эти данные демонстрируют, что HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} задействовали HER2-положительные клетки рака молочной железы таким же образом, как и анти-HER2_DIV, путем ингибирования дальнейших сигнальных путей PI3K/Akt.

Пример 4. Комбинированная обработка для ингибирования клеток BT474.

Комбинация анти-HER2_DIV и анти-HER2_DII продемонстрировала превосходную клиническую активность при метастатическом раке и в настоящее время является стандартом лечения пациентов с HER2-положительным раком молочной железы. Анти-HER2_DII связывается с поддоменом II HER2 и предотвращает гетеродимеризацию с HER3 и EGFR. Интересно, что анти-HER2_DII отдельно не так эффективен, как анти-HER2_DIV отдельно. В сочетании с анти-HER2_DIV он обладает более сильной противоопухолевой активностью при HER2-положительном раке молочной железы,

лучше, чем монотерапия анти-HER2_DIV. Важно отметить, что комбинированная терапия также продемонстрировала большую эффективность при опухолях, устойчивых к анти-HER2_DIV.

Как было сказано выше, помимо HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA}, также был создан слитый белок димер полипептид Fc-вариабельная область антитела, имеющий сайты связывания с поддоменом HER2 II (HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA}). Клетки BT474 обрабатывали комбинацией обоих слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела; ингибирование роста оценивали с помощью анализа жизнеспособности WST1, как описано выше. Примечательно, что комбинация HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} и HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA} привело к более сильному ингибированию роста, чем комбинация анти-HER2_DIV и анти-HER2_DII (фиг. 2).

Поскольку известно, что комбинированная терапия анти-HER2_DIV и анти-HER2_DII преодолевает резистентность опухоли, мы затем протестировали способность комбинации HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} и HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA} в отношении преодоления резистентности опухоли в модели резистентности, индуцированной нейрегулином-1. Нейрегулин 1 (NRG-1) является лигандом для HER3, обогащен микросредой мозга и, как было показано, является мощным индуктором устойчивости к ингибитору PI3K в линиях клеток рака молочной железы, обогащенных HER2. В частности, NRG-1 активирует сигнальные пути HER3 и инициирует димеризацию HER2-HER3. Это, в свою очередь, приводит к активации пути PI3K/Akt и делает опухолевые клетки более устойчивыми к лечению анти-HER2_DIV. В присутствии NRG1 (50 нг/мл) клетки рака молочной железы BT474 действительно были устойчивы к анти-HER2_DIV или HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} (фиг. 4). Тем не менее, связывание HER2 в поддомене IV и II посредством комбинированной обработки анти-HER2_DIV и анти-HER2_DII преодолело эту устойчивость, что согласуется с опубликованными данными (фиг. 4). Кроме того, в присутствии NRG1 комбинация HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} и HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA} была более активной, чем комбинация анти-HER2_DIV и анти-HER2_DII, как определено с помощью анализа ингибирования роста WST1 в клетках BT474 (фиг. 4 и таблица 4). Эти результаты демонстрируют, что комбинация HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} и HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA} не только уменьшила пролиферацию клеток рака молочной железы *in vitro*, но неожиданно была также более активной, чем комбинация анти-HER2_DIV и анти-HER2_DII.

Поскольку растущие доклинические и клинические данные свидетельствуют о том, что HER2-положительное метастазирование рака молочной железы в мозг (BCBM) более

устойчиво к анти-HER2_DIV, чем периферическая опухоль, и что нацеливание на димеризацию HER2-HER3 является стратегией преодоления этой устойчивости, комбинация HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} и HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA} может обеспечить 1) доставку терапевтического средства через гематоэнцефалический барьер для доступа к HER2-положительному BCBM и 2) подавление пролиферации раковых клеток, которые стали устойчивыми к анти-HER2_DIV в результате микросреды мозга.

Таблица 4. Значения IC_{50} для анализа ингибирования роста BT474.

Молекула	IC_{50} (нМ)
анти-HER2_DIV	-
35.23.1.1^{cisLALA}:Her2_DIV	-
анти-HER2_DIV+ анти-Her2_DII	4,63 ± 0,55
35.23.1.1^{cisLALA}:Her2_DIV + 35.23.1.1^{cisLALA}:Her2_DII	1,61 ± 0,18

Подобно анти-HER2_DIV, комбинация анти-HER2_DIV и анти-HER2_DII значительно снижает уровни белка pAKT. Комбинация HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} и HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA} также значительно снижала уровень белка pAKT (фиг. 5). В присутствии NRG1 (50 нг/мл), который приводит к увеличению резистентности опухолевых клеток, что демонстрируется повышенными уровнями белка pAKT, комбинация HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} и HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA}] (при 50 □□г/мл каждый, в течение 2 часов) также значительно снижала уровни белка pAKT (фиг. 5). Этот результат соответствовал ингибированию роста, которое наблюдалось при индуцированной NRG1 устойчивости в клетках BT474 (фиг. 4).

Пример 5. Слитые белки димер полипептида Fc-Fab вызывают Fab-опосредованную АЗКЦ в HER2-положительных клетках рака молочной железы.

Все больше литературных данных указывает на то, что эффекторная функция, такая как АЗКЦ, является важным компонентом противоопухолевого механизма анти-HER2_DIV. Кроме того, исследования на мышах с нокаутом Fc□R показали, что противоопухолевый эффект анти-HER2_DIV резко притупляется. Одной из проблем, связанных с полипептидной терапией, нацеленной на TfR для доступа к ГЭБ, является безопасность ретикулоцитов. По этой причине вводятся мутации LALA, чтобы отключить связывание Fc□R в полипептидах, экспрессирующих TfR. С другой стороны, для применений, в которых требуется эффекторная функция, мутации LALA накладывают терапевтические ограничения на терапию, которая требует доступа к гематоэнцефалическому барьеру и ответа эффекторной функции.

Способность слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела вызывать Fab-опосредованную АЗКЦ оценивали на HER2-положительной линии клеток рака молочной железы. Клетки-мишени, которые экспрессируют высокие уровни HER2 (SK-BR-3), использовали для оценки HER2-опосредованной АЗКЦ, чтобы гарантировать сохранение эффекторной функции. Клетки-мишени высевали из расчета 10000 клеток/лунку, опсонизировали, инкубировали с NK-клетками при соотношении эффекторные клетки: клетки-мишени 25:1 и оценивали цитотоксичность по экспрессии LDH. Клетки-мишени опсонизировали (1) контрольным IgG, (2) анти-HER2_DIV, (3) hIgG1 с сайтом связывания TfR и сайтом связывания Fab HER2 (HER2_DIV-35.23.1.1^{WT_IgG}) и (4) HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA}. В соответствии с Fab-опосредованной АЗКЦ, которая ранее наблюдалась с TfR-связывающим полипептидом с цис-конфигурацией, АЗКЦ наблюдалась в HER2-положительной линии клеток рака молочной железы SK-BR-3 с HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA}, демонстрируя сохранение эффекторной функции (фиг. 6).

Пример 6. Слитые белки димер полипептида Fc-Fab обладают превосходной противоопухолевой активностью в HER2$^+$ модели ксенотрансплантата с клеточной линией BT474

Затем мы использовали модель опухоли ксенотрансплантата BT474 у мышей SCID для исследования in vivo противоопухолевой эффективности комбинации HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA} и HER2_DII-35.23.4^{cisLALA} по сравнению с комбинацией анти-HER2-DIV и анти-HER2-DII. Конкретно, HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA} имеет первую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 18, вторую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 27, и две легкие цепи, содержащие SEQ ID NO: 57. HER2_DII-35.23.4^{cisLALA} имеет первую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 46, вторую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 55, и две легкие цепи, содержащие SEQ ID NO: 58. Анти-HER2_DIV имеет две тяжелые цепи, содержащие SEQ ID NO: 97, и две легкие цепи, содержащие SEQ ID NO: 57. Анти-HER2_DII имеет две тяжелые цепи, содержащие SEQ ID NO: 98, и две легкие цепи, содержащие SEQ ID NO: 58.

Фрагменты опухоли, полученные из клеток BT474, имплантировали подкожно в бок мышам SCID. Когда размер опухоли достигал в среднем 100 мм^3, животных лечили дважды в неделю в течение 4 недель 3, 10 или 20 мг/кг каждого исследуемого препарата и 40 мг/кг контрольного IgG в качестве контроля. Объем опухоли измеряли два раза в неделю; животных умерщвляли, когда они достигли экспериментальной конечной точки 1000 мм^3 или до 60 суток исследования. Как показано на фиг. 7A, при средней дозе 10

мг/кг наблюдается значительно более высокое ингибирование роста опухоли у животных, получавших ATV:HER2-DIV + ATV:HER2-DII (HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA} и HER2_DII-35.23.4^{cisLALA}) по сравнению с анти-HER2-DIV + анти-HER2-DII. Зависимость доза-ответ с использованием доз 3, 10 и 20 мг/кг каждого исследуемого продукта показывает, что ATV:HER2-DIV + ATV:HER2-DII более эффективен, чем анти-HER2-DIV + анти-HER2-DII (фиг. 7B). Когорту животных умерщвляли через 24 часа после 4 дозы. Опухоли собирали, а лизаты использовали для определения уровней экспрессии белка pAKT и общего AKT с использованием набора для лизата цельных клеток MSD phospho AKT (Ser473)/Total AKT Assay согласно протоколу производителя. Вкратце, аналитический планшет блокировали на 1 час блокирующим раствором производителя. Образцы супернатанта лизата и контрольные образцы для анализа инкубировали на планшете в течение 1 часа. Затем добавляли детектирующие антитела и считывали планшет с помощью ридера планшетов MSD. Как и ожидалось, обработка как анти-HER2-DIV + анти-HER2-DII, так и ATV: HER2-DIV + ATV:HER2-DII значительно снижала уровни pAKT, что согласуется с механизмом, при котором нацеливание на HER2 может аннулировать сигнальный путь PI3K/Akt, который активируется в опухолях HER2^{+} (фиг. 7C).

Пример 7. Слитые белки димер полипептид Fc-Fab имеют повышенные концентрации в мозге и соотношение мозг: плазма по сравнению со стандартным hIgG.

Для оценки воздействия плазмы и поглощения в мозге молекул ATV:HER2-DIV (HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA}) и ATV:HER2-DII (HER2_DII-35.23.4^{cisLALA}), мышей TfR$^{mu/hu}$ KI лечили анти-HER2-DIV, анти-HER2-DII, ATV:HER2-DIV и ATV:HER2-DII при 50 мг/кг на 0 сутки. Образцы плазмы собирали на 1, 2, 4 и 7 сутки, а мозг собирали на 1 и 7 сутки. Концентрации антител путем измерения hIgG в плазме мышей и образцах головного мозга количественно оценивали с помощью сэндвич-ИФА (фиг. 8A и 8B). Вкратце, 384-луночный планшет MaxiSorp был покрыт в течение ночи поликлональным антителом осла к IgG человека, специфичным к фрагменту Fc. Соответствующие дозированные растворы использовали в качестве стандарта для количественного определения антител. Образцы мозга гомогенизировали в 1% буфере для лизиса NP40. Стандарты, разбавленную плазму и лизаты головного мозга добавляли в заблокированные планшеты в течение 2 часов при комнатной температуре с последующей 1-часовой инкубацией с детектирующим антителом, конъюгированным с HRP поликлональным козьим антителом к IgG человека, специфичным для Fc-фрагмента. Концентрации hIgG определяли с использованием

стандартной кривой.

Ожидается, что опосредованное мишенью распределение лекарственного средства связано с TfR-связывающими молекулами, поскольку TfR повсеместно экспрессируется в периферических тканях. Действительно, способность ATV: HER2-DIV и ATV: HER2-DII связывать TfR позволяет этим молекулам переноситься через гематоэнцефалический барьер. Через 24 часа после введения дозы 50 мг/кг концентрация в мозге составляла 33-42 нМ для HER2-ATV и около 4,5 нМ для молекул анти-HER2 (фиг. 8B), в то время как соотношение мозг:плазма было примерно в 10 раз выше для антител HER2-ATV к HER2 (фиг. 8C). Взятые вместе, эти данные подтверждают, что эти слитые белки димер полипептида-Fab могут обладать эффектами антител к HER2, но с дополнительными проникающими свойствами BBB.

Пример 8. Характеристика дополнительных слитых белков димер полипептида Fc-Fab.

Дополнительные слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела были сконструированы с использованием CH3C.35.23.4 в первом полипептиде Fc. Аффинности связывания этих конструкций к HER2 с апикальным доменом TfR человека и внеклеточным доменом HER2 тестировали и сравнивали со слитыми белками димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, в которых первый полипептид Fc содержал CH3C.35.23.1.1.

Аффинности слитых белков димер полипептида Fc-вариабельная область антитела к апикальному домену TfR человека и ECD HER2 определяли с помощью поверхностного плазмонного резонанса с использованием Biacore™ 8K. Слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела захватывали с использованием набора Human Fab Capture Kit (GE, № 28-9583-25) на сенсорных чипах Biacore™ Series S CM5 (GE, № 29149604) для измерения связывания апикального домена TfR человека, или с использованием набора для захвата Fc человека (GE, № 29234600) для измерения связывания HER2-ECD человека (ACROBiosystems, HE2-H5225). Серийные трехкратные разведения каждого антигена вводили со скоростью 30 мкл/мин. Связывание антигенов с захваченными слитыми белками димер полипептида Fc-вариабельная область антитела отслеживали в течение 30-300 секунд, а затем отслеживали их диссоциацию в течение 30-4,200 секунд в рабочем буфере HBS-EP+. Ответы на связывание корректировали вычитанием RU из пустой проточной кюветы. Для анализа кинетики использовалась модель Лангира 1:1 одновременного подбора k_{on} и k_{off}.

[0016] Как показано в Таблице 7 ниже, конструкции 35.23.4 к HER2 и конструкции

35.23.1.1 к HER2 все связаны с TfR («ДТ_IgG» указывает на то, что ни один полипептид Fc не содержит модификации LALA; «cisLALA» указывает, что мутации LALA присутствуют в полипептиде Fc, который содержит мутации, которые создают сайт связывания TfR, но не на другом полипептиде Fc). Дрейф вверх кривой для HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA}, вероятно, вызвал артефактное увеличение значения K_D для этой конструкции к HER2. Более того, не наблюдали разницы в аффинности TfR в результате наличия домена Fab в этом формате анализа (т.е., когда полипептид Fc был захвачен через антитела к Fab человека).

Таблица 7. Аффинности связывания для апикального hTfR.

Молекула	K_D (нМ)
HER2_DIV-35.23.4^{ДТ_IgG}	498
HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA}	458
HER2_DII-35.23.4^{cisLALA}	445
HER2_DIV-35.23.1,1^{cisLALA}	660
HER2_DII-35.23.1,1^{cisLALA}	534
Анти-BACE-35.23.4^{ДТ_IgG}	439

Как показано в Таблице 8 ниже, слитые белки димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержащие вариабельные области поддомена IV и поддомена II антитела к HER2, связанные с HER2-ECD с аффинностью (и кинетикой), аналогичной анти-HER2_DIV (используются в качестве эталонного стандарта).

Таблица 8. Аффинности связывания для ECD HER2.

Молекула	K_D (нМ)
HER2_DIV-35.23.4^{ДТ_IgG}	2,0
HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA}	1,4
HER2_DII-35.23.4^{cisLALA}	1,8
HER2_DIV-35.23.1,1^{cisLALA}	1,8
HER2_DII-35.23.1,1^{cisLALA}	2,1
Анти-HER2_DIV	2,1

Пример 9. Фрагменты Fab, нацеленные на HER2, слитые с модифицированными полипептидами Fc, нацеленными на TfR.

Мы создали антитела IgG1 человека к HER2, которые связывают домены HER2 I, II и IV, которые мы называем анти-HER2-DI, анти-HER2-DII и анти-HER2-DIV,

соответственно. Области Fd тяжелых цепей, полученные из этих mAb (VH + CH1), клонировали в векторы экспрессии, содержащие последовательность, кодирующую полипептид Fc, сконструированный для связывания с TfR человека (CH3C.35.23.4). Последовательность, кодирующая полипептид Fc, также содержала мутацию «выступ» (T366W) для предотвращения гомодимеризации и для промотирования гетеродимеризации с полипептидом Fc, содержащим мутации типа «впадина» (T366S / L368A / Y407V). Кроме того, модифицированная последовательность полипептида Fc содержала мутации L234A и L235A, которые ослабляли связывание Fc□R. Область Fd также клонировали в соответствующие векторы «впадин», содержащие последовательность, кодирующую полипептид Fc с мутациями типа «впадина», но без мутаций связывания TfR и мутаций L234A и L235A.

Соответствующие вышеупомянутые векторы выступов и впадин котрансфицировали в клетки ExpiCHO или Expi293 вместе с соответствующим вектором легкой цепи в соотношении выступ:впадина:легкая цепь, равным 1:1:2. Экспрессированный белок очищали хроматографией на белке A с последующей препаративной эксклюзионной хроматографией (SEC) для выделения очищенных белков, которые мы называли ATV:-HER2-DI (HER2_DI-35.23.4^{cisLALA}), ATV:-HER2-DII (HER2_DII-35.23.4^{cisLALA}) и ATV:-HER2-DIV (HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA}). Мы также создали ATV:ctrl, который содержит тот же модифицированный полипептид Fc, что и HER2_DI/DII/DIV-35.23.4^{cisLALA}, но имеет Fab, которые связываются с нерелевантным антигеном (Abeta), который не экспрессируется на клетках, представляющих интерес в последующих исследованиях.

Конкретно, HER2_DI-35.23.4^{cisLALA} имеет первую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 275, вторую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 290, и две легкие цепи, содержащие SEQ ID NO: 293. HER2_DII-35.23.4^{cisLALA} имеет первую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 46, вторую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 55, и две легкие цепи, содержащие SEQ ID NO: 58. HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA} имеет первую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 18, вторую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 27, и две легкие цепи, содержащие SEQ ID NO: 57.

Кроме того, аналогичным образом были получены mAb к HER2-DI, к HER2-DII, к HER2-DIV и к TfR, содержащие немодифицированные константные области IgG1 человека.

Пример 10. Измерение аффинности HER2- и TfR-связывающих молекул

Аффинности mAb и полипептидов Fc, связывающихся с TfR, измеряли с помощью

ППР с использованием Biacore T200 или Biacore 8K. Сенсорные чипы Biacore ™ Series S CM5 иммобилизовали моноклональным мышиным антителом к IgG человека (Fc) для измерения аффинности HER2 или антителом мыши к Fab человека для измерения аффинности TfR (человеческое антитело или набор для захвата Fab от GE Healthcare). Серийные 3-кратные разведения аналита (рекомбинантный внеклеточный домен HER2 или рекомбинантный апикальный домен TfR) вводили со скоростью потока 30 мкл/мин. Каждый образец анализировали с использованием 3-минутной ассоциации и 10-минутной диссоциации. После каждой инъекции чип регенерировали с использованием 3 M $MgCl_2$. Ответ связывания корректировали путем вычитания RU из проточной кюветы, улавливающей нерелевантный IgG с аналогичной плотностью. Для анализа кинетики использовалась модель Лангира 1:1 одновременного подбора k_{on} и k_{off}.

Таблица 10. Данные ППР

Молекула	HER2 k_{on} ($M^{-1}c^{-1}$)	HER2 k_{off} (c^{-1})	HER2 K_D (M)	Устойчивая аффиноость huTfR (M)
Анти-HER2-DI	1,54E+05	1,01E-03	6,5E-09	н/с
Анти-HER2-DII	1,75E+05	2,28E-04	1,3E-09	н/с
Анти-HER2-DIV	2,44E+05	1,90E-04	7,8E-10	н/с
ATV:HER2-DI	1,39E+05	1,05E-03	7,5E-09	3,7E-07
ATV:HER2-DII	1,66E+05	7,75E-04	4,7E-09	4,5E-07
ATV:HER2-DIV	2,42E+05	1,67E-04	6,9E-10	5,0E-07

н/с = нет связывания

Пример 11. Совместное нацеливание на TfR и HER2-DIV

Многие опухолевые клетки и линии опухолевых клеток, такие как BT474 и OE19, экспрессируют как HER2, так и TfR. Хотя хорошо известно, что антитела, нацеленные на HER2-DIV, способны подавлять рост опухолевых клеток и снижать жизнеспособность опухолевых клеток в некоторых линиях клеток $HER2^+$, мы пытались понять, приведет ли совместное нацеливание на HER2-DIV и TfR к усиленному уничтожению клеток.

Сначала мы сравнили HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA} с анти-HER2-DIV и ATV:ctrl в анализе ингибирования роста с линией опухолевых клеток $HER2^+$ BT474, которая чувствительна к терапии анти-HER2. Клетки BT474 высевали в течение ночи из расчета 10000 клеток/лунку в 96-луночный планшет, обрабатывая 60 мкл серийного разведения 1:3 интересующих молекул, начиная с 166 нМ (25000 нг/мл). Культуральную среду (RPMI) и лекарственные препараты добавляли на 3-и сутки. На 6-е сутки определяли рост клеток, используя 5 мкл реагента WST-1 (Sigma Aldrich) в 50 мкл ростовой среды.

Планшет инкубировали в течение 4 часов в присутствии реагента WST-1 и оптическую плотность определяли при 440 нм. Процент ингибирования роста/пролиферации рассчитывали на основе A440 нМ и нормализовали по необработанному контролю. Анти-HER2-DIV снижал жизнеспособность клеток BT474 по сравнению с контролем с IC50 1,1 нМ и максимальным ингибированием 64%. Напротив, ATV:ctrl, который не связывается ни с одним клеточным антигеном, не оказывал никакого влияния на жизнеспособность клеток, в то время как HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA} (ATV:HER2-DIV) демонстрировал аналогичное ингибирование роста по сравнению с анти-HER2-DIV (фиг. 9A).

Далее мы сравнили HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA} с анти-HER2-DIV и ATV:ctrl с другой раковой клеточной линией HER2^{+}OE19, устойчивой к терапии анти-HER2. В отличие от BT474, в котором не было разницы между эффектами HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA} и анти-HER2-DIV, клеточная линия OE19 имела максимальное ингибирование 75% при обработке HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA}, в то время как она не реагировала на анти-HER2-DIV (фиг. 9B). Эти результаты предполагают, что совместное нацеливание на HER2-DIV и TfR приводит к усиленному ингибированию роста клеток в линии клеток, устойчивых к HER2, по сравнению с нацеливанием только на HER2-DIV.

Пример 12. Совместное нацеливание на TfR и HER2-DII

Затем мы определили, может ли совместное нацеливание на HER2-DII и TfR с использованием фрагментов Fab к HER2-DII, слитых с TfR-связывающими полипептидами Fc (ATV: HER2-DII; HER2_DII-35.23.4^{cisLALA}), может усиливать ингибирование роста клеток против опухолевых клеток BT474 и OE19. Используя тот же анализ ингибирования роста, описанный ранее, мы определили, что, в отличие от обработки анти-HER2-DIV, обработка анти-HER2-DII не влияет на жизнеспособность клеток BT474 и OE19 (фиг. 10A и 10B). Точно так же клетки, обработанные только ATV:ctrl или анти-TfR, или в комбинации с анти-HER2-DII, не ингибировали рост клеток BT474. Напротив, обработка клеток BT474 и OE19 HER2_DII-35.23.4^{cisLALA} приводила к снижению жизнеспособности клеток с IC50 1,17 и 0,725 нМ и максимальным ингибированием 51,2% и 77,5% соответственно (фиг. 10A и 10B). Поскольку ни анти-TfR по отдельности, ни комбинация анти-TfR и анти-HER2-DII не оказали никакого влияния на жизнеспособность клеток BT474 (фиг. 10A), мы пришли к выводу, что связывание как с TfR, так и с HER2-DII с одной и той же молекулой (HER2_DII- 35.23.4^{cisLALA}) требовалось для уничтожения клеток в этом контексте. Эти результаты подтверждают, что одновременное связывание и вероятное сшивание TfR и HER2-DII одной молекулой может усиливать ингибирование роста линий раковых клеток HER2^{+}.

Пример 13. Совместное нацеливание на TfR и HER2-DI

Чтобы дополнительно определить, будет ли совместное нацеливание на TfR и белок HER2 более широко применяться к другим доменам HER2, мы также нацелены на HER2-DI, используя анти-HER2-DI и HER2_DI-35.23.4^{cisLALA} (ATV: HER2-DI) в анализ ингибирования роста с клеточной линией OE19. Подобно HER2-DII, клетки OE19 не реагировали на анти-HER2-DI, но имели максимальное ингибирование 84% при обработке HER2_DI-35.23.4^{cisLALA} (фиг. 11). Эти данные согласуются с нашей гипотезой о том, что одновременное связывание и вероятное сшивание TfR и HER2-DI одной молекулой может усиливать ингибирование роста раковых клеток HER2^{+}. Взятые вместе, ингибирование роста опухоли может быть усилено в поддомене-мишени HER2 при одновременном включении TfR, даже если домен обычно не реагирует, когда нацеливание происходит только на него.

Пример 14. Комбинация ATV:HER2-DIV и ATV:HER2-DII

Затем мы использовали анализ ингибирования роста, описанный ранее, чтобы оценить эффекты комбинации ATV:HER2-DIV (HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA}) и ATV:HER2-DII (HER2_DII-35.23.4^{cisLALA}) по сравнению с комбинацией анти-HER2-DIV и анти-HER2-DII в клетках BT474. Действительно, мы наблюдали приблизительно 2,5-кратное увеличение эффективности ингибирования роста при лечении комбинацией ATV:HER2-DIV и ATV:HER2-DII по сравнению с комбинацией анти-HER2_DIV и анти-HER2_DII (фиг. 12).

Мы также проверили, может ли комбинация ATV:HER2-DIV (HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA}) и ATV:HER2-DII (HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA}) преодолеть резистентность опухоли в модели резистентности, индуцированной нейрегулином-1. Используемый в данном документе полипептид Fc, сконструированный для связывания с TfR человека, представляет собой CH3C.35.23.1.1. Конкретно, HER2_DIV-35.23.1,1^{cisLALA} имеет первую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 2, вторую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 27, и две легкие цепи, содержащие SEQ ID NO: 57. HER2_DII-35.23.1,1^{cisLALA} имеет первую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 30, вторую тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 55, и две легкие цепи, содержащие SEQ ID NO: 58.

Нейрегулин 1 (NRG-1) является лигандом для HER3, который обогащен в микросреде мозга, который активирует сигнальные пути HER3 и инициирует димеризацию HER2-HER3. Это, в свою очередь, приводит к активации пути PI3K/AKT и делает опухолевые клетки устойчивыми к лечению анти-HER2-DIV. В присутствии NRG1 (50 нг/мл) клетки рака молочной железы BT474 действительно были устойчивы к

анти-HER2-DIV, что показало ингибирование роста клеток только примерно на 15% (фиг. 4). Перекрестное связывание HER2-DIV и TfR с HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} (ATV: HER2-DIV) привело к усиленному ингибированию роста примерно до 40% (фиг.4), но оно все еще было ослаблено по сравнению с клетками, не обработанными NRG-1 (ингибирование примерно до 70%, фиг. 9A и 9B). Тем не менее, эти результаты демонстрируют, что усиление уничтожения опухолевых клеток путем перекрестного связывания HER2 и TfR может быть достигнуто с использованием молекул, нацеленных на HER2-DIV, в дополнение к молекулам, нацеленным на HER2-DII, как показано ранее.

[0017] Совместная обработка клеток BT474, обработанных NRG1, комбинацией молекул, нацеленных как на HER2-DIV, так и на HER2-DII, приводила к гибели > 80% клеток. Как и ожидалось, эффект был усилен HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} + HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA} относительно анти-HER2-DIV + анти-HER2-DII (фиг. 4), опять же предположительно из-за перекрестного связывания HER2 и TfR.

Пример 15. Экспрессия TfR на клеточной поверхности после обработки анти-HER2/TfR

Мы проверили, может ли лечение ATV:HER2-DII (HER2_DII-35.23.4^{cisLALA}) и/или ATV:HER2-DIV (HER2_DIV-35.23.4^{cisLALA}) привести к увеличению интернализации TfR посредством измерения поверхностной экспрессии белка TfR с помощью проточной цитометрии. Клетки BT474 инкубировали в течение 30 минут при 37 °C с исследуемыми препаратами или контролями, как показано на фиг. 13A-13C, включая: ФСБ, ATV:ctrl, анти-HER2-DIV и/или анти-HER2-DII, комбинацией ATV:ctrl и анти-HER2-DIV или анти-HER2-DII, и ATV:HER2-DIV и/или ATV:HER2-DII. После инкубации клетки промывали 2 раза холодным ФСБ, окрашивали антителом к TfR (CD71), конъюгированным с APC (Fisher Scientific) в течение 20 минут на льду, и оценивали медианную интенсивность флуоресценции (MFI) с помощью проточной цитометрии с использованием BD Canto II. Результаты были проанализированы с помощью программного обеспечения FlowJo.

Клетки BT474, обработанные более чем примерно 100 пМ ATV:HER2-DIV и/или ATV:HER2-DII, имели значительно сниженную поверхностную экспрессию TfR после 30 мин инкубации при 37 °C (фиг. 13A-13C), тогда как лечение анти-HER2-DII или анти-HER2-DIV не влияло на экспрессию TfR. Также следует отметить, что ATV:ctrl, который связывает TfR, но не HER2, не влияет на экспрессию TfR, предполагая, что перекрестное связывание HER2-TfR способствует истощению количества рецепторов. Этот механизм может способствовать усиленному уничтожению клеток, наблюдаемому для поперечно связывающихся молекул TfR-HER2 (см. Предыдущие примеры).

Пример 16. Модифицированные полипептиды Fc, которые связываются с TfR

В этом примере описаны модификации полипептидов Fc, обеспечивающие связывание и транспорт TfR через BBB.

Если не указано иное, положения аминокислотных остатков в этом разделе пронумерованы на основе системы нумерации EU для области Fc дикого типа IgG1 человека.

Получение и характеристика полипептидов Fc, содержащих модификации в положениях 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421 (клоны CH3C)

Были созданы библиотеки дрожжей, содержащие области Fc, имеющие модификации, введенные в положения, включая положения аминокислот 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421, как описано ниже. Иллюстративные клоны, которые связываются с TfR, показаны в таблицах 5 и 6.

После дополнительных двух раундов сортировки отдельные клоны были секвенированы и идентифицированы четыре уникальные последовательности. Эти последовательности имели консервативный Trp в положении 388, и все имели ароматический остаток (т.е. Trp, Tyr или His) в положении 421. В других положениях наблюдалось много разнообразия.

Четыре клона, выбранные из библиотеки, были экспрессированы как Fc, слитые с фрагментами Fab в клетках CHO или 293 и очищены с помощью белка A и эксклюзионной хроматографии, а затем подвергнуты скринингу на связывание с TfR человека в присутствии или в отсутствие голо-Tf с помощью ELISA. Все клоны связывались с TfR человека, и на связывание не влияло добавление избытка (5 мкМ) голо-Tf. Клоны также тестировали на связывание с клетками 293F, которые эндогенно экспрессируют TfR человека. Клоны связывались с клетками 293F, хотя общее связывание было значительно слабее, чем у высокоаффинного положительного контроля.

[0018] Затем было проверено, могут ли клоны интернализоваться в TfR-экспрессирующих клетках с использованием клона CH3C.3 в качестве тестового клона. Прикрепленные клетки HEK 293 выращивали в 96-луночных планшетах до около 80% слияния, среду удаляли и добавляли образцы в концентрации 1 мкМ: клон CH3C.3, контрольное антитело к TfR, эталонное положительное контрольное антитело (Ab204), эталонное антитело к BACE1, антитело отрицательного контроля (Ab107) и IgG человека изотипического контроля (полученный от Jackson Immunoresearch). Клетки инкубировали при 37°C и концентрации CO_2 8% в течение 30 минут, затем промывали, проницаемость 0,1% Triton™ X-100 и окрашивали вторичным антителом против человеческого IgG-Alexa

Fluor® 488. После дополнительной промывки клетки визуализировали под флуоресцентным микроскопом с высоким разрешением (т.е. в системе Opera Phenix™) и количественно определяли количество точек на клетку. При 1 мкМ клон CH3C.3 продемонстрировал аналогичную склонность к интернализации с положительным контролем к TfR, тогда как отрицательные контроли не продемонстрировали интернализации.

Дальнейшая модификация клонов

Дополнительные библиотеки были созданы для повышения аффинности начальных совпадений к TfR человека с использованием подхода мягкой рандомизации, в котором были созданы олигонуклеотиды ДНК для введения мягкого мутагенеза на основе каждого из четырех исходных совпадений. Были идентифицированы дополнительные клоны, которые связывались с TfR, и были отобраны. Отобранные клоны попали в две общие группы последовательностей. Клоны группы 1 (т.е. клоны CH3C.18, CH3C.21, CH3C.25 и CH3C.34) имели полуконсервативный Leu в положении 384, Leu или His в положении 386, консервативный и полуконсервативный Val в положениях 387 и 389 соответственно, и полуконсервативный мотив PTW в положениях 413, 416 и 421 соответственно. Клоны группы 2 имели консервативный Tyr в положении 384, мотив TXWSX в положениях 386-390 и консервативный мотив S/T-E-F в положениях 413, 416 и 421 соответственно. Клоны CH3C.18 и CH3C.35 использовали в дополнительных исследованиях в качестве репрезентативных членов каждой группы последовательностей.

Картирование эпитопов

Чтобы определить, связаны ли сконструированные области Fc с апикальным доменом TfR, апикальный домен TfR экспрессировали на поверхности фага. Чтобы правильно сложить и отобразить апикальный домен, нужно было обрезать одну из петель и переставить последовательность по кругу. Клоны CH3C.18 и CH3C.35 наносили на планшеты для ИФА и следовали протоколу ИФА для фагов. Вкратце, после промывки и блокирования 1% PBSA добавляли разведения фагового дисплея и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем планшеты промывали и добавляли антитело к M13-HRP, и после дополнительной промывки планшеты проявляли субстратом TMB и гасили 2 Н H_2SO_4. Оба клона CH3C.18 и CH3C.35 связывались с апикальным доменом в этом анализе.

Картирование паратопа

Чтобы понять, какие остатки в домене Fc были наиболее важными для связывания TfR, была создана серия областей Fc мутантного клона CH3C.18 и клона CH3C.35, в

которых каждый мутант имел единственную позицию в реестре связывания TfR, мутировавшую обратно в дикую тип. Полученные варианты рекомбинантно экспрессировали в виде слитых Fab-Fc и тестировали на связывание с TfR человека или макака. Для клона CH3C.35 положения 388 и 421 были важны для связывания; возвращение любого из них к дикому типу полностью отменяет связывание с TfR человека.

Характеристика связывания клонов созревания

ИФА по связыванию проводили с очищенными вариантами слитых Fab-Fc с TfR человека или макака, нанесенным на планшет, как описано выше. Варианты из библиотеки созревания клона CH3C.18, клона CH3C.3.2-1, клона CH3C.3.2-5 и клона CH3C.3.2-19 связывали TfR человека и макака с приблизительно эквивалентными значениями EC_{50}, тогда как родительские клоны CH3C.18 и CH3C.35 имели более чем в 10 раз лучшее связывание с TfR человека по сравнению с TfR макака.

Затем было проверено, интернализируются ли модифицированные полипептиды Fc в клетках человека и обезьяны. Используя протокол, описанный выше, тестировали интернализацию в человеческих клетках HEK 293 и клетках макака резуса LLC-MK2. Варианты, которые сходным образом связывали TfR человека и макака, клоны CH3C.3.2-5 и CH3C.3.2-19, имели значительно улучшенную интернализацию в клетках LLC-MK2 по сравнению с клоном CH3C.35.

Дополнительная модификация клонов

Дополнительная модификация для дополнительных клонов CH3C.18 и CH3C.35 со зрелой аффинностью включала добавление дополнительных мутаций в положения, которые усиливали связывание за счет прямых взаимодействий, взаимодействий вторичной стриктуры или стабилизации структуры. Это было достигнуто путем генерации и выбора из библиотеки «NNK walk» или «NNK patch». Библиотека NNK walk включала в себя пошаговые мутации NNK остатков, которые находятся рядом с паратопом. Посмотрев на структуру Fc, связанного с Fc□RI (PDB ID: 4W4O), 44 остатка рядом с исходными положениями модификации были идентифицированы как кандидаты для испытания. В частности, следующие остатки стали мишенями для мутагенеза NNK: K248, R255, Q342, R344, E345, Q347, T359, K360, N361, Q362, S364, K370, E380, E382, S383, G385, Y391, K392, T393, D399, S400, D401, S403, K409, L410, T411, V412, K414, S415, Q418, Q419, G420, V422, F423, S424, S426, Q438, S440, S442, L443, S444, P4458, G446 и K447. 44 библиотеки одноточечных NNK были созданы с использованием мутагенеза Kunkel, а продукты были объединены и введены в дрожжи посредством

электропорации, как описано выше для других дрожжевых библиотек.

Комбинация этих мини-библиотек (каждая из которых имела одну мутацию в положении, что обеспечивало 20 вариантов) сгенерировала небольшую библиотеку, которая была отобрана с использованием дрожжевой поверхности для любых положений, которые приводят к более высокому сродству связывания. Отбор выполняли, как описано выше, с использованием белков апикального домена TfR. После трех раундов сортировки клоны из обогащенной дрожжевой библиотеки были секвенированы и были идентифицированы несколько «горячих точек», где определенные точечные мутации значительно улучшили связывание с белками апикального домена. Для клона CH3C.35 эти мутации включали E380 (мутировавший в Trp, Tyr, Leu или Gln) и S415 (мутировавший в Glu). Последовательности одиночных и комбинированных мутантов клона CH3C.35 представлены в SEQ ID NO: 177 и 185-195. Для клона CH3C.18 эти мутации включали E380 (мутировавший в Trp, Tyr или Leu) и K392 (мутировавший в Gln, Phe или His). Последовательности одиночных мутантов клона CH3C.18 представлены в SEQ ID NO: 181-186.

Дополнительные библиотеки созревания для улучшения аффинности клона CH3C.35

Дополнительная библиотека для идентификации комбинаций мутаций из библиотеки NNK walk с добавлением нескольких дополнительных позиций на их периферии была создана, как описано для предыдущих дрожжевых библиотек. В этой библиотеке мотивы YxTEWSS (SEQ ID NO: 196) и TxxExxxxF (SEQ ID NO: 197) оставались константными, а шесть положений были полностью рандомизированы: E380, K392, K414, S415, S424 и S426. Положения E380 и S415 были включены, потому что они были «горячими точками» в библиотеке NNK walk. Положения K392, S424 и S426 были включены, потому что они составляют часть ядра, которая может позиционировать область связывания, в то время как K414 был выбран из-за его близости к положению 415.

Эта библиотека была отсортирована, как описано ранее, только с апикальным доменом TfR макака. Обогащенный пул секвенировали после пяти раундов, и последовательности модифицированных областей идентифицированных уникальных клонов представлены в SEQ ID NO: 198-215.

Следующие библиотеки были разработаны для дальнейшего изучения приемлемого разнообразия в основном паратопе связывания. Каждое из исходных положений (384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421) плюс две горячие точки (380 и 415) были индивидуально рандомизированы кодонами NNK для создания серии библиотек

мутагенеза однопозиционных насыщений на дрожжах. Кроме того, каждое положение было индивидуально возвращено к остатку дикого типа, и эти отдельные клоны помещались на поверхность дрожжей. Было отмечено, что положения 380, 389, 390 и 415 были единственными положениями, которые сохранили существенное связывание с TfR после реверсии к остатку дикого типа (некоторое остаточное, но значительно уменьшенное связывание наблюдалось при возвращении 413 к дикому типу).

Однопозиционные библиотеки NNK были отсортированы в течение трех раундов против апикального домена TfR человека для сбора верхних ~ 5% связывающих образцов, а затем по меньшей мере 16 клонов секвенировали из каждой библиотеки. Результаты демонстрируют, какие аминокислоты в каждом положении могут переноситься без значительного снижения связывания с TfR человека в контексте клона CH3C.35. Список приведен ниже:

Положение 380: Trp, Leu или Glu;

Положение 384: Tyr или Phe;

Положение 386: только Thr;

Положение 387: только Glu;

Положение 388: только Trp;

Положение 389: Ser, Ala или Val (хотя остаток Asn дикого типа, по-видимому, сохраняет некоторое связывание, он не проявлялся после сортировки библиотеки);

Положение 390: Ser или Asn;

Положение 413: Thr или Ser;

Положение 415: Glu или Ser;

Положение 416: только Glu, и

Положение 421: только Phe.

Вышеупомянутые остатки при замене в клоне CH3C.35 в виде отдельных изменений или в комбинациях представляют разнообразие паратопов, которые сохраняют связывание с апикальным доменом TfR. Клоны, имеющие мутации в этих положениях, включают те, которые показаны в таблице 6, и последовательности доменов CH3 этих клонов представлены в SEQ ID NO: 177-180, 192-195, 214 и 216-249.

Пример 17. Способы

Создание библиотек фаговых дисплеев

Матрица ДНК, кодирующая последовательность Fc человека дикого типа, была синтезирована и включена в фагмидный вектор. Фагмидный вектор содержал лидерную последовательность ompA или pelB, вставку Fc, слитую с метками эпитопа c-Myc и 6xHis,

и янтарный стоп-кодон, за которым следует белок оболочки pIII M13.

Были созданы праймеры, содержащие трикодоны «NNK» в желаемых положениях для модификаций, где N представляет собой любое основание ДНК (т.е. A, C, G или T), а K представляет собой либо G, либо T. Альтернативно, применяли праймеры для «мягкой» рандомизации, где смесь оснований, соответствующих 70% основанию дикого типа и 10% каждого из трех других оснований, использовалась для каждого положения рандомизации. Библиотеки были созданы путем выполнения ПЦР-амплификации фрагментов области Fc, соответствующих областям рандомизации, а затем собраны с использованием концевых праймеров, содержащих сайты рестрикции *Sfi*I, затем обработаны *Sfi*I и лигированы в фагмидные векторы. В качестве альтернативы праймеры использовали для проведения мутагенеза Кункеля. Лигированные продукты или продукты мутагенеза Кункеля трансформировали в электрокомпетентные клетки *E. coli* штамма TG1 (полученные из Lucigen®). Клетки *E. coli* инфицировали фагом-помощником M13K07 после выделения и выращивали в течение ночи, после чего библиотечный фаг осаждали 5% ПЭГ/NaCl, ресуспендировали в 15% глицерине в ФСБ и замораживали до использования. Типичные размеры библиотеки варьировали от около 10^9 до около 10^{11} трансформантов. Fc-димеры помещали на поверхность фага посредством спаривания между слитым с pIII Fc и растворимым Fc, не присоединенным к pIII (последний генерировался из-за янтарного стоп-кодона перед pIII).

Создание библиотек дрожжевых дисплеев

Матрица ДНК, кодирующая последовательность Fc человека дикого типа, была синтезирована и включена в дрожжевой дисплейный вектор. Для библиотек CH2 и CH3 полипептиды Fc отображались на белке клеточной стенки Aga2p. Оба вектора содержали препро-лидерные пептиды с последовательностью расщепления Kex2 и метку эпитопа c-Myc, слитую с концом Fc.

Библиотеки дрожжевого дисплея были собраны с использованием методов, аналогичных описанным для фаговых библиотек, за исключением того, что амплификацию фрагментов выполняли с праймерами, содержащими гомологичные концы для вектора. Свежеприготовленные электрокомпетентные дрожжи (т.е. штамм EBY100) электропорировали с линеаризованным вектором и вставками собранной библиотеки. Способы электропорации будут известны специалисту в данной области техники. После восстановления в селективной среде SD-CAA дрожжи выращивали до слияния и дважды делили, затем индуцировали экспрессию белка путем переноса в среду SG-CAA. Типичные размеры библиотеки варьировали от около 10^7 до около 10^9 трансформантов.

Fc-димеры были образованы спариванием соседних мономеров Fc.

Общие методы селекции фагов

Фаговые методы были адаптированы из Phage Display: A Laboratory Manual (Barbas, 2001). Дополнительные сведения о протоколе можно получить из этой ссылки.

Методы сортировки планшетов

[0019] Мишень TfR человека наносили на MaxiSorp® микротитрационные планшеты (обычно 200 мкл при 1-10 мкг/мл в ФСБ) в течение ночи при 4 °C. Все связывание проводили при комнатной температуре, если не указано иное. Библиотеки фагов добавляли в каждую лунку и инкубировали в течение ночи для связывания. Лунки для микротитрования тщательно промывали ФСБ, содержащим 0,05% Tween® 20 (PBST) и связанный фаг элюировали, инкубируя лунки с кислотой (обычно 50 мМ HCl с 500 мМ KCl или 100 мМ глицином, pH 2,7) в течение 30 минут. Элюированный фаг нейтрализовали 1 М Трис (pH 8) и амплифицировали с использованием клеток TG1 и фага-помощника M13/KO7 и выращивали в течение ночи при 37 °C в среде 2YT, содержащей 50 мкг/мл карбенациллина и 50 мкг/мл канамицина. Титры фага, элюированного из лунки, содержащей мишень, сравнивали с титрами фага, выделенного из лунки, не содержащей мишень, для оценки обогащения. Строгость отбора повышали за счет последующего уменьшения времени инкубации во время связывания и увеличения времени промывки и количества промывок.

Способы сортировки шариками

[0020] Антиген был биотинилирован за счет свободных аминов с использованием NHS-PEG4-Biotin (получен из Pierce™). Для реакций биотинилирования использовали 3-5-кратный молярный избыток биотинового реагента в ФСБ. Реакции гасили трисом с последующим обширным диализом в ФСБ. Биотинилированный антиген иммобилизовали на покрытых стрептавидином магнитных шариках (т.е. шариках M280-стрептавидин, полученных от Thermo Fisher). Библиотеки фагового дисплея инкубировали с покрытыми антигеном шариками при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем несвязавшийся фаг удаляли и шарики промывали PBST. Связанный фаг элюировали путем инкубирования с 50 мМ HCl, содержащим 500 мМ KCl (или 0,1 М глицина, pH 2,7), в течение 30 минут, а затем нейтрализовали и размножали, как описано выше для сортировки планшетов.

После трех-пяти раундов пэннинга отдельные клоны подвергали скринингу либо путем экспрессии Fc на фаге, либо путем растворения в периплазме *E. coli*. Такие способы экспрессии будут известны специалисту в данной области техники. Отдельные

фаговые супернатанты или периплазматические экстракты подвергали воздействию блокированных планшетов ИФА, покрытых антигеном или отрицательным контролем, и впоследствии были обнаружены с использованием конъюгированного с HRP козьего анти-Fc (полученного от Jackson Immunoresearch) для периплазматических экстрактов или антитела к M13 (GE Healthcare) для фага, а затем проявили с помощью реагента TMB (полученного от Thermo Fisher). Лунки со значениями OD_{450} более чем примерно в 5 раз выше фона считались положительными клонами и секвенировались, после чего некоторые клоны были экспрессированы либо как растворимый фрагмент Fc, либо слиты с фрагментами Fab.

Общие методы селекции дрожжей

Методы сортировки шариков (сортировка клеток с помощью магнитного поля (MACS))

Отборы MACS и FACS выполнялся аналогично тому, как описано в Ackerman, *et al.* 2009 *Biotechnol. Prog.* 25(3), 774. Магнитные гранулы стрептавидина (например, гранулы стрептавидина M-280 от Thermo Fisher) метили биотинилированным антигеном и инкубировали с дрожжами (обычно 5-10-кратное разнообразие библиотеки). Несвязанные дрожжи удаляли, шарики промывали, связанные дрожжи выращивали в селективной среде и индуцировали для последующих циклов отбора.

Методы сортировки клеток с активацией флуоресценцией (FACS)

Дрожжи метили антителом к c-Myc для контроля экспрессии и биотинилированного антигена (концентрация варьировалась в зависимости от раунда сортировки). В некоторых экспериментах антиген был предварительно смешан со стрептавидин-Alexa Fluor® 647 для того, чтобы повысить авидность взаимодействия. В других экспериментах биотинилированный антиген обнаруживался после связывания и отмывки стрептавидин-Alexa Fluor® 647. Синглетные дрожжи со связыванием были отсортированы с использованием сортировщика клеток FACS Aria III. Отсортированные дрожжи выращивали в селективных средах, а затем индуцировали для последующих раундов отбора.

После того, как была достигнута обогащенная популяция дрожжей, дрожжи высевали на чашки с агаром SD-CAA, выращивали отдельные колонии и индуцировали их экспрессию, а затем метили, как описано выше, для определения их склонности к связыванию с мишенью. Позитивные одиночные клоны впоследствии секвенировали на предмет связывания антигена, после чего некоторые клоны экспрессировали либо как растворимый фрагмент Fc, либо как слитые с фрагментами Fab.

Общие методы скрининга

Скрининг с помощью ИФА

Клоны отбирали из результатов пэннинга и выращивали в отдельных лунках 96-луночных планшетов с глубокими лунками. Клоны были либо индуцированы для периплазматической экспрессии с использованием среды для аутоиндукции (полученной от EMD Millipore), либо инфицированы вспомогательным фагом для фагового дисплея отдельных вариантов Fc на фаге. Культуры выращивали в течение ночи и центрифугировали в осадок *E. coli*. Для ИФА фага непосредственно использовали фагсодержащий супернатант. Для периплазматической экспрессии гранулы ресуспендировали в 20% сахарозе с последующим разбавлением водой в соотношении 4:1 и встряхивали при 4 °C в течение 1 часа. Планшеты центрифугировали для осаждения твердых веществ и супернатант использовали в ИФА.

Планшеты для ИФА покрывали антигеном, обычно в концентрации 0,5 мг/мл в течение ночи, затем блокировали 1% БСА перед добавлением фаговых или периплазматических экстрактов. После 1-часовой инкубации и отмывания несвязанного белка добавляли конъюгированное с HRP вторичное антитело (т.е. антитело к Fc или антитело к M13 для растворимого Fc или Fc на фаге, соответственно) и инкубировали в течение 30 минут. Планшеты снова промывали, затем проявляли реагентом TMB и гасили 2 H серной кислотой. Поглощение при 450 нм определяли количественно с использованием планшет-ридера (BioTek®), а кривые связывания строили с использованием программного обеспечения Prism, где это применимо. Сигнал поглощения для тестируемых клонов сравнивали с отрицательным контролем (фаговый или параплазматический экстракт, лишенный Fc). В некоторых анализах растворимый трансферрин или другой конкурент добавляли на стадии связывания, обычно в значительном молярном избытке (более чем 10-кратный избыток).

Скрининг методом проточной цитометрии

Полипептиды вариантов Fc (экспрессируемые либо на фаге, в периплазматических экстрактах, либо растворимые в виде слияния с фрагментами Fab) добавляли к клеткам в 96-луночных планшетах с V-образным дном (около 100000 клеток на лунку в ФСБ + 1% БСА (PBSA)), и инкубировали при 4 °C в течение 1 часа. Затем планшеты центрифугировали, среду удаляли, а затем клетки один раз промывали PBSA. Клетки ресуспендировали в PBSA, содержащем вторичное антитело (обычно козье антитело, конъюгированное с Alexa Fluor®, к IgG-человека 647 (полученное от Thermo Fisher)). Через 30 минут планшеты вращали и среду удаляли, клетки промывали 1-2 раза PBSA, а

затем планшеты считывали на проточном цитометре (т.е., проточном цитометре FACSCanto™ II). Медианные значения флуоресценции рассчитывали для каждого условия с использованием программного обеспечения FlowJo, а кривые связывания строили с помощью программного обеспечения Prism.

Пример 18. Конструирование вариантов CH3C.18

В этом примере описывается создание библиотеки вариантов CH3C.18.

Отдельные клоны были выделены и выращены в течение ночи в среде SG-CAA с добавлением 0,2% глюкозы для индукции поверхностной экспрессии вариантов CH3C.18. Для каждого клона два миллиона клеток промывали трижды ФСБ + 0,5% БСА при pH 7,4. Клетки окрашивали биотинилированной мишенью, 250 нМ TfR человека, 250 нМ TfR яванского макака или 250 нМ неродственного биотинилированного белка в течение 1 часа при 4 °C при встряхивании, затем дважды промывали тем же буфером. Клетки окрашивали нейтравидин-Alexafluor647 (AF647) в течение 30 минут при 4° C, затем снова дважды промывали. Экспрессию измеряли с использованием антитела к c-myc со вторичным антителом курицы-Alexfluor488 (AF488). Клетки ресуспендировали и измеряли медианную интенсивность флуоресценции (MFI) AF647 и AF488 на BD FACS CantoII. MFI рассчитывали для TfR-связывающей популяции для каждой популяции и наносили на график с TfR человека, TfR макака или контрольным связыванием.

В Таблице 9 представлена библиотека вариантов CH3C.18. Каждая строка представляет собой вариант, который содержит указанные аминокислотные замены в каждом положении, а аминокислоты в остальных положениях такие же, как в CH3C.18. Положения, указанные в Таблице 9, пронумерованы в соответствии с системой нумерации EU.

Таблица 9. Варианта CH3C.18

Положение	**384**	**386**	**387**	**389**	**390**	**391**	**413**	**416**	**421**
Fc дикого типа	N	Q	P	N	N	Y	D	R	N
CH3C.4 (CH3C.18.1)	V	T	P	A	L	Y	L	E	W
CH3C.2 (CH3C.18.2)	Y	T	V	S	H	Y	S	E	Y
CH3C.3 (CH3C.18.3)	Y	T	E	S	Q	Y	E	D	H
CH3C.1 (CH3C.18.4)	L	L	V	V	G	Y	A	T	W
CH3C.18 (CH3C.18.1.18)	L	H	V	A	V	Y	P	T	W
CH3C.3.1-3 (CH3C.18.3.1-3)	L	H	V	V	A	T	P	T	W
CH3C.3.1-9 (CH3C.18.3.1-9)	L	P	V	V	H	T	P	T	W
CH3C.3.2-1 (CH3C.18.3.2-1)	L	H	V	V	N	F	P	T	W
CH3C.3.2-5 (CH3C.18.3.2-5)	L	H	V	V	D	Q	P	T	W

Положение	384	386	387	389	390	391	413	416	421
CH3C.3.2-19 (CH3C.18.3.2-19)	L	H	V	V	N	Q	P	T	W
CH3C.3.4-1 (CH3C.18.3.4-1)	W	F	V	S	T	T	P	N	F
CH3C.3.4-19 (CH3C.18.3.4-19)	W	H	V	S	T	T	P	N	Y
CH3C.3.2-3 (CH3C.18.3.2-3)	L	H	V	V	E	Q	P	T	W
CH3C.3.2-14 (CH3C.18.3.2-14)	L	H	V	V	G	V	P	T	W
CH3C.3.2-24 (CH3C.18.3.2-24)	L	H	V	V	H	T	P	T	W
CH3C.3.4-26 (CH3C.18.3.4-26)	W	T	V	G	T	Y	P	N	Y
CH3C.3.2-17 (CH3C.18.3.2-17)	L	H	V	V	G	T	P	T	W

Понятно, что примеры и варианты осуществления, описанные в данном документе, предназначены только для иллюстративных целей и что различные модификации или изменения в их свете будут предложены специалистам в данной области техники и должны быть включены в сущность и сферу применения этой заявки и объема прилагаемой формулы изобретения. Последовательности под порядковыми номерами, процитированными в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки.

Если не указано иное, все употребляемые в данном документе технические и научные термины имеют то же значение, которое обычно подразумевается средним специалистом в той области, к которой относится данное изобретение.

Изобретение, иллюстративно описанное в данном документе, может быть соответствующим образом осуществлено на практике в отсутствие какого-либо элемента или элементов, ограничения или ограничений, конкретно нераскрытых в данном документе. Таким образом, например, термины «состоящий», «включающий», «содержащий» и т. д. следует читать в широком смысле и без ограничений. Кроме того, примененные в данном документе термины и выражения использовались в качестве терминов описания, а не ограничения, и при использовании таких терминов и выражений нет намерения исключать какие-либо эквиваленты показанных и описанных признаков или их частей, но признается, что возможны различные модификации в пределах объема заявленного изобретения.

Аминокислотные замены для каждого клона, описанные в таблицах (например, в таблице 6), диктуют аминокислотные замены в положениях реестра этого клона по сравнению с аминокислотами, обнаруженными в последовательности, указанной в Перечне последовательностей, в случае несоответствия.

Все публикации, патентные заявки, патенты и другие источники, упомянутые в

данном документе, явно включены в качестве ссылки во всей их полноте, в той же степени, как если бы каждая из них была включена в данный документ посредством ссылки отдельно. В случае конфликта данное описание, включая определения, является превалирующим.

Таблица 5. Положения и мутации реестра CH3C

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

Таблица 6. Дополнительные положения и мутации в реестре CH3C

Название клона	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423
Дикий тип	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	V	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N	V	F
35.20.1	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.2	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.3	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.4	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.5	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.6	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.1	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.2	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.3	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.4	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.5	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.6	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.1	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.2	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.3	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.4	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.5	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.6	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.1	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.2	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.3	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.4	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.5	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.6	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17.1	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17.2	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17.3	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17.4	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17.5	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17.6	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35,20	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35,21	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35,22	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	.	E	.	.	.	.	F	.	.
35,23	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35,24	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.

Название клона	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423
35.21.17	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.N390	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	.	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.1.1							F		T	E	W	S	S					S		E	E					F		
35.23.2.1							Y		T	E	W	A						S			E					F		
35.23.1.1							F		T	E	W	S						S		E	E					F		
35.S413							Y		T	E	W	S	S					S			E					F		
35.23.3.1							Y		T	E	W	V						S		E	E					F		
35.N390.1							Y		T	E	W	S						S			E					F		
35.23.6.1							F		T	E	W	V						S		E	E					F		

НЕОФИЦИАЛЬНЫЙ ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «выступ»
2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA
3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCS VLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCS VLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA, M428L и N434S
5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутациями типа «впадина»
6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA
7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCS VLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SFGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCS VLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA, M428L и N434S
9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «выступ»
10	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA
11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA, M428L и N434S
13	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.3, с мутациями типа «впадина»
14	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA
15	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
16	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA, M428L и N434S
17	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «выступ»
18	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA
19	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
20	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA, M428L и N434S
21	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.4, с мутациями типа «впадина»
22	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA
23	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
24	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA, M428L и N434S
25	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с Fc, с мутацией типа «выступ»
26	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с Fc, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S
27	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с Fc, с мутациями типа «впадина»

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
28	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с Fc, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S
29	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESF GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «выступ»
30	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESF GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA
31	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESF GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
32	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESF GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA, M428L и N434S
33	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFG TEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутациями типа «впадина»
34	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFG TEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA
35	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFG TEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVL HEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
36	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFG TEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVL HEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA, M428L и N434S
37	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «выступ»
38	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA
39	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
40	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA, M428L и N434S
41	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.3, с мутациями типа «впадина»
42	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA
43	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
44	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA, M428L и N434S
45	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «выступ»
46	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA
47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA, M428L и N434S
49	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.4, с мутациями типа «впадина»
50	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA
51	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
52	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA, M428L и N434S
53	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с Fc, с мутацией типа «выступ»
54	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с Fc, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S
55	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с Fc, с мутациями типа «впадина»

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
56	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с Fc, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S
57	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGK APKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	Легкая цепь анти-HER2_DIV
58	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKA PKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	Легкая цепь анти-HER2_DII
59	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	Последовательность VH анти-HER2_DIV
60	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGK APKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQHYTTPPTFGQGTKVEIK	Последовательность VL анти-HER2_DIV
61	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS	Последовательность VH анти-HER2_DII
62	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKA PKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQYYIYPYTFGQGTKVEIK	Последовательность VL анти-HER2_DII

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
63	APEX_1X_2GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESX_3GTEWX_4NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVX_5KEEWQQGFVFSCSVX_6HEALHX_7HYTQKSLSLSPGK, где X_1 представляет собой L или A; X_2 представляет собой L или A; X_3 представляет собой F или Y; X_4 представляет собой S или V; X_5 представляет собой S или T; X_6 представляет собой M или L, а X_7 представляет собой N или S	Консенсусная последовательность для CH3C.35.23.1.1, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4 и CH3C.35.23 с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA, M428L и N434S являются частью консенсусной последовательности
64	APEX_1X_2GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESX_3GTEWX_4NYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVX_5KEEWQQGFVFSCSVX_6HEALHX_7HYTQKSLSLSPGK, где X_1 представляет собой L или A; X_2 представляет собой L или A; X_3 представляет собой F или Y; X_4 представляет собой S или V; X_5 представляет собой S или T; X_6 представляет собой M или L, а X_7 представляет собой N или S	Консенсусная последовательность для CH3C.35.23.1.1, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4 и CH3C.35.23 с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA, M428L и N434S являются частью консенсусной последовательности
65	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями типа «выступ»
66	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями типа «впадина» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
67	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Последовательность Fc с мутациями типа «впадина»
68	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Последовательность Fc с мутациями типа «впадина» и мутациями M428L и N434S
69	GFNIKDTYIH	CDR-H1 анти-HER2_DIV
70	RIYPTNGYTRYADSVKG	CDR-H2 анти-HER2_DIV
71	SRWGGDGFYAMDY	CDR-H3 анти-HER2_DIV
72	RASQDVNTAVA	CDR-L1 анти-HER2_DIV
73	SASFLYS	CDR-L2 анти-HER2_DIV
74	QQHYTTPPT	CDR-L3 анти-HER2_DIV
75	GFTFTDYTMD	CDR-H1 анти-HER2_DII
76	DVNPNSGGSIYNQRFKG	CDR-H2 анти-HER2_DII
77	ARNLGPSFYFDY	CDR-H3 анти-HER2_DII
78	KASQDVSIGVA	CDR-L1 анти-HER2_DII
79	SASYRYT	CDR-L2 анти-HER2_DII
80	QQYYIYPYT	CDR-L3 анти-HER2_DII

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
81	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «выступ»
82	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA
83	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S
84	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA, M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
85	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23, с мутациями типа «впадина»
86	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA
87	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S
88	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA, M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
89	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «выступ»
90	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA
91	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S
92	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA, M428L и N434S

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
93	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23, с мутациями типа «впадина»
94	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA
95	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S
96	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA, M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
97	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	HC анти-HER2_DIV с Fc человека дикого типа
98	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII_HC с Fc человека дикого типа
99	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Последовательность Fc человека дикого типа
100	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK	Последовательность домена CH2
101	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность домена CH3

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
102	MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLAV DEEENADNNTKANVTKPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYL GYCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGEDFPAARRLYWDDLKR KLSEKLDSTDFTGTIKLLNENSYVPREAGSQKDENLALYVENQ FREFKLSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVEN PGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVR AGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAH LGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFG NMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVSNVLKEIKILNIF GVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAWGPGAAKSGVGTALLLKLAQ MFSDMVLKDGFQPSRSIIFASWSAGDFGSVGATEWLEGYLSSL HLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPV TGQFLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCED TDYPYLGTTMDTYKELIERIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLTH DVELNLDYERYNSQLLSFVRDLNQYRADIKEMGLSLQWLYSA RGDFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDRVMRVEYHFLS PYVSPKESPFRHVFWGSGSHTLPALLENLKLRKQNNGAFNETL FRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF	Белок трансферринового рецептора 1 (TFR1) человека
103	NSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGT KKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYM DQTKFPIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSG LPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESK NVKLTVS	Апикальный домен TfR человека
104	EPKSCDKTHTCPPCP	Аминокислотная последовательность шарнирной области IgG1 человека
105	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутацией типа «выступ»
106	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «выступ» и LALA
107	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «выступ» и LALAPG

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
108	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «выступ» и YTE
109	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.3 с мутацией типа «выступ» и мутациями M198L и N204S
110	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «выступ», LALA и YTE
111	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «выступ», LALAPG и YTE
112	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «выступ», LALA, M198L и N204S
113	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «выступ», LALAPG, M198L и N204S
114	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадина»

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
115	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадина» и LALA
116	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадина» и LALAPG
117	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадина» и YTE
118	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадина», M198L и N204S
119	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадина», LALA и YTE
120	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадина», LALAPG и YTE
121	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадина», LALA, M198L и N204S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
122	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадина», LALAPG, M198L и N204S
123	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутацией типа «выступ»
124	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «выступ» и LALA
125	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «выступ» и LALAPG
126	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «выступ» и YTE
127	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.4 с мутацией типа «выступ» и мутациями M198L и N204S
128	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «выступ», LALA и YTE

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
129	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «выступ», LALAPG и YTE
130	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «выступ», LALA, M198L и N204S
131	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «выступ», LALAPG, M198L и N204S
132	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина»
133	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина» и LALA
134	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина» и LALAPG
135	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина» и YTE

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
136	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG K	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина», M198L и N204S
137	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина», LALA и YTE
138	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина», LALAPG и YTE
139	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG K	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина», LALA, M198L и N204S
140	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG K	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина», LALAPG, M198L и N204S
141	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23 с мутацией типа «выступ»
142	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «выступ» и LALA

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
143	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «выступ» и LALAPG
144	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «выступ» и YTE
145	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23 с мутацией типа «выступ» и мутациями M198L и N204S
146	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «выступ», LALA и YTE
147	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «выступ», LALAPG и YTE
148	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «выступ», LALA, M198L и N204S
149	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «выступ», LALAPG, M198L и N204S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
150	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадина»
151	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадина» и LALA
152	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадина» и LALAPG
153	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадина» и YTE
154	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG K	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадина», M198L и N204S
155	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадина», LALA и YTE
156	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадина», LALAPG и YTE

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
157	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG K	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадина», LALA, M198L и N204S
158	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG K	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадина», LALAPG, M198L и N204S
159	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутацией типа «выступ»
160	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «выступ» и LALA
161	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «выступ» и LALAPG
162	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «выступ» и YTE
163	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутацией типа «выступ» и мутациями M198L и N204S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
164	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «выступ», LALA и YTE
165	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «выступ», LALAPG и YTE
166	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «выступ», LALA, M198L и N204S
167	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «выступ», LALAPG, M198L и N204S
168	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «впадина»
169	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «впадина» и LALA
170	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «впадина» и LALAPG

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
171	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «впадина» и YTE
172	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG K	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «впадина», M198L и N204S
173	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «впадина», LALA и YTE
174	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «впадина», LALAPG и YTE
175	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG K	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «впадина», LALA, M198L и N204S
176	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG K	Клон CH3C.35.23.1.1 с мутациями типа «впадина», LALAPG, M198L и N204S
177	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
178	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.3
179	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.4
180	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.1.1
181	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESLGHVWAVYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK	Вариант 1 клона CH3C.18
182	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVYWESLGHVWAVYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK	Вариант 2 клона CH3C.18
183	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWAVYFTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Вариант 3 клона CH3C.18
184	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWAVYHTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK	Вариант 4 клона CH3C.18

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
185	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESLGHVWAVYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK	Клон CH3C.35.13
186	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWAVYQTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK	Клон CH3C.35.14
187	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESLGHVWAVYQTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK	Клон CH3C.35.15
188	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESLGHVWVNQKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK	Клон CH3C.35.16
189	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESLGHVWVNQQTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK	Клон CH3C.35.17
190	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESLGHVWVNQQTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK	Клон CH3C.35.18
191	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.19

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
192	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.20
193	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.21
194	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.22
195	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.24
196	YxTEWSS	Консенсусный мотив для CH3C.35
197	TxxExxxxF	Консенсусный мотив для CH3C.35
198	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.1
199	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.2

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
200	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTREEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.3
201	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTGEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.4
202	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTREEWQQGFVFSCWVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.5
203	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCWVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.6
204	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTREEWQQGFVFTCWVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.7
205	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTREEWQQGFVFTCGVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.8
206	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTREEWQQGFVFECWVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.9

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
207	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTREEWQQGFVFKCWVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.21.10
208	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTPEEWQQGFVFKCWVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.11
209	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTREEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.12
210	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTGEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.13
211	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTREEWQQGFVFTCWVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.14
212	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTGEEWQQGFVFTCWVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.21.15
213	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTREEWQQGFVFTCGVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.16

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
214	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.17
215	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYRTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.18
216	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.20.1
217	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWASYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.20.2
218	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVSYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.20.3
219	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.20.4
220	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWASYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.20.5

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
221	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWVSYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.20.6
222	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.a.1
223	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWASYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.21.a.2
224	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWVSYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.21.a.3
225	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.21.a.4
226	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESFGTEWASYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.21.a.5
227	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESFGTEWVSYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.21.a.6

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
228	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.1
229	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.2
230	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWANYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.5
231	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWVNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.6
232	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESFGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.24.1
233	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWANYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.24.2
234	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.24.3

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
235	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.24.4
236	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESFGTEWANYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.24.5
237	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESFGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.24.6
238	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.17.1
239	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.17.2
240	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWVSYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.17.3
241	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.17.4

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
242	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESFGTEWASYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.17.5
243	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESFGTEWVSYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.21.17.6
244	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVTKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.N390
245	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.20.1.1
246	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.2.1
247	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVSKSEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.S413
248	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWVNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	Клон CH3C.35.23.3.1

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
249	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWVNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Клон CH3C.35.23.6.1
250	GYSFTGYWMN	CDR-H1 анти-HER2_DI
251	MIHPSDSEIRANQKFRD	CDR-H2 анти-HER2_DI
252	ARGTYDGGFEY	CDR-H3 анти-HER2_DI
253	RASQSVSGSRFTYMH	CDR-L1 анти-HER2_DI
254	YASILES	CDR-L2 анти-HER2_DI
255	QHSWEIPP	CDR-L3 анти-HER2_DI
256	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSS	Последовательность VH анти-HER2_DI
257	DIVLTQSPASLVVSLGQRATISCRASQSVSGSRFTYMHWYQQK PGQPPKLLIKYASILESGVPARFSGGGSGTDFTLNIHPVEEDDTA TYYCQHSWEIPPWTFGGGTKLEIK	Последовательность VL анти-HER2_DI
258	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESF GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «выступ»
259	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESF GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
260	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESF GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S
261	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESF GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA и M428L, и N434S
262	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFG TEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутациями типа «впадина»
263	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFG TEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
264	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFG TEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVL HEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S
265	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFG TEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVL HEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.1.1, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA и M428L, и N434S
266	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «выступ»
267	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
268	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S
269	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA и M428L, и N434S
270	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.3, с мутациями типа «впадина»
271	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
272	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S
273	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.3, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA и M428L, и N434S
274	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «выступ»
275	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
276	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S
277	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA и M428L, и N434S
278	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.4, с мутациями типа «впадина»
279	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
280	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S
281	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23.4, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA и M428L, и N434S
282	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «выступ»
283	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
284	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S
285	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA и M428L, и N434S
286	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23, с мутациями типа «впадина»
287	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
288	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S
289	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с CH3C.35.23, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA и M428L, и N434S
290	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с Fc, с мутациями типа «впадина»
291	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с Fc, с мутацией типа «впадина» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
292	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с Fc, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA и M428L, и N434S
293	DIVLTQSPASLVVSLGQRATISCRASQSVSGSRFTYMHWYQQK PGQPPKLLIKYASILESGVPARFSGGGSGTDFTLNIHPVEEDDTA TYYCQHSWEIPPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC	Легкая цепь анти-HER2_DI
294	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с Fc, с мутацией типа «выступ»
295	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с Fc, с мутацией типа «выступ» и мутациями M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
296	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с Fc, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA
297	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с Fc, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA
298	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с Fc, с мутацией типа «выступ» и мутацией LALA
299	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с Fc, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA, M428L и N434S

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
300	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с Fc, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA, M428L и N434S
301	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с Fc, с мутацией типа «выступ» и мутациями LALA, M428L и N434S
302	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с Fc, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA
303	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с Fc, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA

SEQ ID NO	**Последовательность**	**Описание**
304	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DI, слитое с Fc, с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA
305	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DIV, слитое с Fc, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA, M428L и N434S
306	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV LHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Анти-HER2_DII, слитое с Fc, с мутацией типа «впадина» и мутациями LALA, M428L и N434S
307	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	HC анти-HER2_DV с Fc человека дикого типа

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
308	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHT	Fd HC анти-HER2_DIV
309	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHT	Fd HC анти-HER2_DII
310	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTGYWMNWLKQRP GQGLEWIGMIHPSDSEIRANQKFRDKATLTVDKSSTTAYMQLS SPTSEDSAVYYCARGTYDGGFEYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHT	Fd HC анти-HER2_DI
311	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFAFSSYGMHWVRQAPG KGLEWVAVIWFDGTKKYYTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN TLRAEDTAVYYCARDRGIGARRGPYYMDVWGKGTTVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA VEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Контроль, слитый с CH3C.35.23.4 с мутацией типа «впадина» и мутацией LALA (ATV:ctrl HC1)
312	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFAFSSYGMHWVRQAPG KGLEWVAVIWFDGTKKYYTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN TLRAEDTAVYYCARDRGIGARRGPYYMDVWGKGTTVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Контроль, слитый с Fc с мутациями типа «впадина» (ATV:ctrl HC2)
313	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYSTPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	Контрольная легкая цепь (ATV:ctrl LC)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержащий:

(a) вариабельную область антитела, которая способна связывать рецептор 2 эпидермального фактора роста человека (HER2), или ее антигенсвязывающий фрагмент; и

(b) модифицированный димер полипептида Fc, содержащий первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR.

2. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 1, в котором вариабельная область антитела образует часть домена Fab.

3. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 1 или 2, в котором вариабельная область антитела связывается с поддоменом IV, II или I HER2 человека.

4. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 3, в котором вариабельная область антитела связывается с поддоменом IV HER2 человека

5. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 4, в котором вариабельная область антитела содержит одну или более определяющих комплементарность областей (CDR), выбранных из группы, состоящей из:

(a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:69;

(b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:70;

(c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:71;

(d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:72;

(e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно

аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 73, и

(f) CDR3 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 74.

6. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 5, в котором вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из:

(a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69;

(b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70;

(c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71;

(d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72;

(e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 73, и

(f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 74.

7. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 4-6, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

8. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 3, в котором вариабельная область антитела связывается с поддоменом II HER2 человека

9. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 8, в котором вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из:

(a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 75, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:75;

(b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 76, или

имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:76;

(c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 77, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:77;

(d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 78, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:78;

(e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 79, и

(f) CDR3 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 80.

10. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 9, в котором вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из:

(a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75;

(b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76;

(c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77;

(d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 78;

(e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79, и

(f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80.

11. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 8-10, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62.

12. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 3, в котором вариабельная область антитела связывается с поддоменом I HER2 человека

13. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 12, в котором вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из:

(a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 250, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:250;

(b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 251, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:251;

(c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 252, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:252;

(d) CDR1 легкой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 253, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:253;

(e) CDR2 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 254, и

(f) CDR3 легкой цепи, имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 255.

14. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 13, в котором вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из:

(a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 250;

(b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 251;

(c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 252;

(d) CDR1 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 253;

(e) CDR2 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 254, и

(f) CDR3 легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 255.

15. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 12-14, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

16. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 1 - 15, в котором сайт связывания TfR находится в пределах домена CH3.

17. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 16, в котором модифицированный домен CH3 получен из домена CH3 IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека.

18. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 16 или 17, в котором модифицированный домен CH3 содержит один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или одиннадцатых замен в наборе аминокислотных положений, включающих 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 415, 416 и 421, в соответствии с нумерацией EU.

19. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 16-18, в котором модифицированный домен CH3 содержит Glu, Leu, Ser, Val, Trp, Tyr или Gln в положении 380; Leu, Tyr, Phe, Trp, Met, Pro или Val в положении 384; Leu, Thr, His, Pro, Asn, Val или Phe в положении 386; Val, Pro, Ile или кислую аминокислоту в положении 387; Trp в положении 388; алифатическую аминокислоту, Gly, Ser, Thr или Asn в положении 389; Gly, His, Gln, Leu, Lys, Val, Phe, Ser, Ala, Asp, Glu, Asn, Arg или Thr в положении 390; кислую аминокислоту, Ala, Ser, Leu, Thr, Pro, Ile или His в положении 413; Glu, Ser, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln или Arg в положении 415; Thr, Arg, Asn или кислую аминокислоту в положении 416; и/или ароматическую аминокислоту His или Lys в положении 421, в соответствии с нумерацией EU.

20. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 1-19, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела связывается с апикальным доменом TfR.

21. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 1-20, в котором первый полипептид Fc содержит аминокислотные модификации, которые уменьшают связывание FcγR, при связывании с TfR.

22. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 21, в котором аминокислотные модификации включают Ala в положении 234 и в положении 235, в соответствии с нумерацией EU.

23. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 1-22, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc, присутствующий в димере полипептидов Fc, содержит аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке.

24. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 23, в котором аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке, включают (i) Leu в положении 428 и Ser в положении 434, или (ii) Ser или Ala в положении 434, в соответствии с нумерацией EU.

25. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 1-24, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит мутацию типа «выступ» T366W, а второй полипептид Fc, присутствующий в димере полипептидов, содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU.

26. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п 25, в котором первый полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63.

27. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 25 или 26, в котором второй полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 67 и 68.

28. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержащий:

(a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2, или ее антигенсвязывающий фрагмент;

(b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR и мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU, и

(c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

29. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по

п. 28, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

30. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 28, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62.

31. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 28, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

32. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 28 или 29, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:1, 9, 17 и 81.

33. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 28 или 29, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A, в соответствии с нумерацией EU.

34. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 33, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:2, 10, 18 и 82.

35. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 28, 29 или 32-34, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27.

36. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 28, 29 или 32-35, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57.

37. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п.

28 или 30, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:29, 37, 45 и 89.

38. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 28 или 30, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A.

39. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 38, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:30, 38, 46 и 90.

40. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 28, 30 или 37-39, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55.

41. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 28, 30 или 37-40, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58.

42. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 28 или 31, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:258, 266, 274 и 282.

43. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 28 или 31, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A.

44. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 43, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:259, 267, 275 и 283.

45. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 28, 31 и 42-44, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 291.

46. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по

любому из пп. 28, 31 и 42-45, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 293.

47. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержащий:

(a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2, или ее антигенсвязывающий фрагмент;

(b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, мутацию типа «выступ» T366W и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и

(c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

48. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 47, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

49. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 47, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62.

50. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 47, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

51. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 47 или 48, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:3, 11, 19 и 83.

52. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 47 или 48, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A, в соответствии с нумерацией EU.

53. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 52, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:4, 12, 20 и 84.

54. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 47, 48 и 51-53, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27.

55. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 47, 48 и 51-54, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57.

56. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 47 или 49, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:31, 39, 47 и 91.

57. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 47 или 49, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A, в соответствии с нумерацией EU.

58. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 57, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:32, 40, 48 и 92.

59. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 47, 49 или 56-58, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55.

60. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 47, 49 или 56-59, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58.

61. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 47 или50, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность

любой из SEQ ID NO: 260, 268, 276 и 284.

62. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 47 или 50, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A, в соответствии с нумерацией EU.

63. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 62, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:261, 269, 277 и 285.

64. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 47, 50 или 61-63, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 290.

65. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 47, 50 или 61-64, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 293.

66. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержащий:

(a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2, или ее антигенсвязывающий фрагмент;

(b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR и мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU, и

(c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

67. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 66, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

68. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 66, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 62.

69. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 66, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

70. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 66 или 67, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:1, 9, 17 и 81.

71. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 66 или 67, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A, в соответствии с нумерацией EU.

72. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 71, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:2, 10, 18 и 82.

73. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 66, 67 или 70-72, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28.

74. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 66, 67 или 70-73, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57.

75. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 66 или 68, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:29, 37, 45 и 89.

76. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 66 или 68, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A, в соответствии с нумерацией EU.

77. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 76, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела

содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:30, 38, 46 и 90.

78. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 66, 68 или 75-77, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56.

79. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 66, 68 или 75-78, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58.

80. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 66 или 69, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:258, 266, 274 и 282.

81. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 66 или 69, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A, в соответствии с нумерацией EU.

82. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 80, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:259, 267, 275 и 283.

83. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 66, 69 или 80-82, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 291.

84. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 66, 69 или 80-83, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 293.

85. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, содержащий:

(a) вариабельную область антитела, которая способна связывать HER2, или ее антигенсвязывающий фрагмент;

(b) первый полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт

связывания TfR, мутацию типа «выступ» T366W и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и

(c) второй полипептид Fc, который содержит мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V и аминокислотную модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU, и не содержит сайт связывания TfR.

86. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 85, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

87. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 85, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62.

88. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 85, в котором вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

89. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 85 или 86, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:3, 11, 19 и 83.

90. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 85 или 86, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A, в соответствии с нумерацией EU.

91. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 90, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:4, 12, 20 и 84.

92. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 85, 86 или 89-91, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28.

93. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 85, 86 или 89-92, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57.

94. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 85 или 87, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:31, 39, 47 и 91.

95. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 85 или 87, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A, в соответствии с нумерацией EU.

96. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 95, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:32, 40, 48 и 92.

97. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 85, 87 или 94-96, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56.

98. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 85, 87 или 94-97, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58.

99. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 85 или 88, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:260, 268, 276 и 284.

100. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 85 или 88, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A, в соответствии с нумерацией EU.

101. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 100, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит первую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность

любой из SEQ ID NO:261, 269, 277 и 285.

102. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 85, 88 и 99-101, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит вторую тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 291.

103. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 85, 88 и 99-101, в котором слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 293.

104. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 1-103, в котором модифицированный димер полипептида Fc существенно не истощает популяцию ретикулоцитов.

105. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 104, в котором количество ретикулоцитов после введения слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела, меньше, чем количество ретикулоцитов после введения контроля.

106. Слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по п. 105, в котором контроль представляет собой соответствующий слитый белок димер TfR-связывающего полипептида-вариабельная область антитела с полной эффекторной функцией и/или не содержит мутаций, которые уменьшают связывание FcγR.

107. Тяжелая цепь антитела, содержащая:

(a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 человека, или ее фрагмент; и

(b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR.

108. Тяжелая цепь антитела по п. 107, в которой модифицированный полипептид Fc содержит одну или более аминокислотных модификаций, которые снижают связывание FcγR при связывании с TfR.

109. Тяжелая цепь антитела по п. 107 или 108, в которой вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из:

(a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной

последовательности SEQ ID NO:69;

(b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:70; и

(c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71.

110. Тяжелая цепь антитела по п. 107 или 108, в которой вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из:

(a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69;

(b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70; и

(c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71.

111. Тяжелая цепь антитела по любому из пп. 107-110, в которой вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59.

112. Тяжелая цепь антитела по п. 107 или 108, в которой вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из:

(a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 75, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:75;

(b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 76, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:76; и

(c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 77, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной

последовательности SEQ ID NO: 77.

113. Тяжелая цепь антитела по п. 107 или 108, в которой вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из:

(a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75;

(b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76; и

(c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77.

114. Тяжелая цепь антитела по п. 107, 108, 112 или 113, в которой вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61.

115. Тяжелая цепь антитела по п. 107 или 108, в которой вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из:

(a) CDR1 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 250, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:250;

(b) CDR2 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 251, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO:251; и

(c) CDR3 тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 252, или имеющей до двух аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 252.

116. Тяжелая цепь антитела по п. 107 или 108, в которой вариабельная область антитела содержит одну или более CDR, выбранных из группы, состоящей из:

(a) CDR1 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 250;

(b) CDR2 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 251; и

(c) CDR3 тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 252.

117. Тяжелая цепь антитела по п. 107, 108, 115 или 116, в которой вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256.

118. Тяжелая цепь антитела по любому из пп. 107-117, в которой сайт связывания TfR содержит модифицированный домен CH3.

119. Тяжелая цепь антитела по п. 118, в которой модифицированный домен CH3 получен из домена CH3 IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека.

120. Тяжелая цепь антитела по п. 118 или 119, в которой модифицированный домен CH3 содержит один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или одиннадцатых замен в наборе аминокислотных положений, включающих 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 415, 416 и 421, в соответствии с нумерацией EU.

121. Тяжелая цепь антитела по любому из пп. 118-120, в которой модифицированный домен CH3 содержит Glu, Leu, Ser, Val, Trp, Tyr или Gln в положении 380; Leu, Tyr, Phe, Trp, Met, Pro или Val в положении 384; Leu, Thr, His, Pro, Asn, Val или Phe в положении 386; Val, Pro, Ile или кислую аминокислоту в положении 387; Trp в положении 388; алифатическую аминокислоту, Gly, Ser, Thr или Asn в положении 389; Gly, His, Gln, Leu, Lys, Val, Phe, Ser, Ala, Asp, Glu, Asn, Arg или Thr в положении 390; кислую аминокислоту, Ala, Ser, Leu, Thr, Pro, Ile или His в положении 413; Glu, Ser, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln или Arg в положении 415; Thr, Arg, Asn или кислую аминокислоту в положении 416; и/или ароматическую аминокислоту His или Lys в положении 421 в соответствии с нумерацией EU.

122. Тяжелая цепь антитела по любому из пп. 108-121, в которой аминокислотные модификации, которые уменьшают связывание FcγR при связывании с TfR, включают Ala в положении 234 и в положении 235, в соответствии с нумерацией EU.

123. Тяжелая цепь антитела по любому из пп. 107-122, в которой модифицированный полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке.

124. Тяжелая цепь антитела по п. 123, в которой аминокислотные модификации, которые увеличивают период полужизни в сыворотке, включают (i) Leu в положении 428 и Ser в положении 434, или (ii) Ser или Ala в положении 434, в соответствии с нумерацией EU.

125. Тяжелая цепь антитела по любому из пп. 107-124, в которой модифицированный полипептид Fc дополнительно содержит мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU.

126. Тяжелая цепь антитела по п. 125, в которой модифицированный полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63.

127. Тяжелая цепь антитела, содержащая:

(a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 человека, или ее фрагмент; и

(b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR и мутацию типа «выступ» T366W, в соответствии с нумерацией EU.

128. Тяжелая цепь антитела по п. 127, в которой вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59.

129. Тяжелая цепь антитела по п. 127, в которой вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61.

130. Тяжелая цепь антитела по п. 127, в которой вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256.

131. Тяжелая цепь антитела по п. 128, в которой тяжелая цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:1, 9, 17 и 81.

132. Тяжелая цепь антитела по п. 129, в которой тяжелая цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:29, 37, 45 и 89.

133. Тяжелая цепь антитела по п. 130, в которой тяжелая цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:258, 266, 274 и 282.

134. Тяжелая цепь антитела по любому из пп. 127-133, в которой модифицированный полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A, в соответствии с нумерацией EU.

135. Тяжелая цепь антитела по п. 134, в которой тяжелая цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:2, 10, 18 и 82.

136. Тяжелая цепь антитела по п. 134, в которой тяжелая цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:30, 38, 46 и 90.

137. Тяжелая цепь антитела по п. 134, в которой тяжелая цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:259, 267, 275 и 283.

138. Тяжелая цепь антитела, содержащая:

(a) вариабельную область тяжелой цепи антитела к HER2 человека, или ее фрагмент; и

(b) модифицированный полипептид Fc, который содержит модификации, которые создают сайт связывания TfR, мутацию типа «выступ» T366W и аминокислотную

модификацию N434S с M428L или без нее, в соответствии с нумерацией EU.

139. Тяжелая цепь антитела по п. 138, в которой вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59.

140. Тяжелая цепь антитела по п. 138, в которой вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61.

141. Тяжелая цепь антитела по п. 138, в которой вариабельная область тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256.

142. Тяжелая цепь антитела по п. 139, в которой тяжелая цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:3, 11, 19 и 83.

143. Тяжелая цепь антитела по п. 140, в которой тяжелая цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:31, 39, 47 и 91.

144. Тяжелая цепь антитела по п. 140, в которой тяжелая цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:260, 268, 276 и 284.

145. Тяжелая цепь антитела по любому из пп. 138-144, в которой модифицированный полипептид Fc дополнительно содержит аминокислотные модификации L234A и L235A, в соответствии с нумерацией EU.

146. Тяжелая цепь антитела по п. 145, в которой тяжелая цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:4, 12, 20 и 84.

147. Тяжелая цепь антитела по п. 145, в которой тяжелая цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:32, 40, 48 и 92.

148. Тяжелая цепь антитела по п. 145, в которой тяжелая цепь антитела содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO:261, 269, 277 и 285.

149. Фармацевтическая композиция, содержащая слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 1-106 и фармацевтически приемлемый носитель.

150. Способ трансцитоза вариабельной области антитела, которая способна связывать HER2 человека, или ее антигенсвязывающего фрагмента, через эндотелий, включающий приведение в контакт эндотелия с композицией, содержащей слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 1-106.

151. Способ по п. 150, в котором эндотелий представляет собой ГЭБ.

152. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции, содержащей слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 1-106.

153. Способ по п. 152, в котором рак представляет собой HER2-положительный

рак.

154. Способ по п. 153, в котором HER2-положительный рак представляет собой HER2-положительный рак молочной железы.

155. Способ по п. 153, в котором HER2-положительный рак представляет собой HER2-положительную аденокарциному желудка и/или HER2-положительную аденокарциному гастроэзофагеального соединения.

156. Способ по любому из пп. 153-155, в котором HER2-положительный рак представляет собой метастатический рак.

157. Способ лечения метастазов в мозг HER2-положительного рака у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции, содержащей слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела по любому из пп. 1-106.

158. Способ по п. 157, в котором HER2-положительный рак представляет собой HER2-положительный рак молочной железы.

159. Способ по п. 157, в котором HER2-положительный рак представляет собой HER2-положительную аденокарциному желудка и/или HER2-положительную аденокарциному гастроэзофагеального соединения.

160. Способ по любому из пп. 152-159, в котором композиция, содержащая слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела антагонизирует активность HER2.

161. Способ по любому из пп. 152-160, в котором первый слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела и второй слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела вводят субъекту,

причем вариабельная область антитела первого слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, и

при этом вариабельная область антитела второго слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62.

162. Способ по любому из пп. 152-160, в котором первый слитый белок димер

полипептида Fc-вариабельная область антитела и второй слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела вводят субъекту,

причем вариабельная область антитела первого слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, и

при этом вариабельная область антитела второго слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

163. Способ по любому из пп. 152-160, в котором первый слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела и второй слитый белок димер полипептида Fc-вариабельная область антитела вводят субъекту,

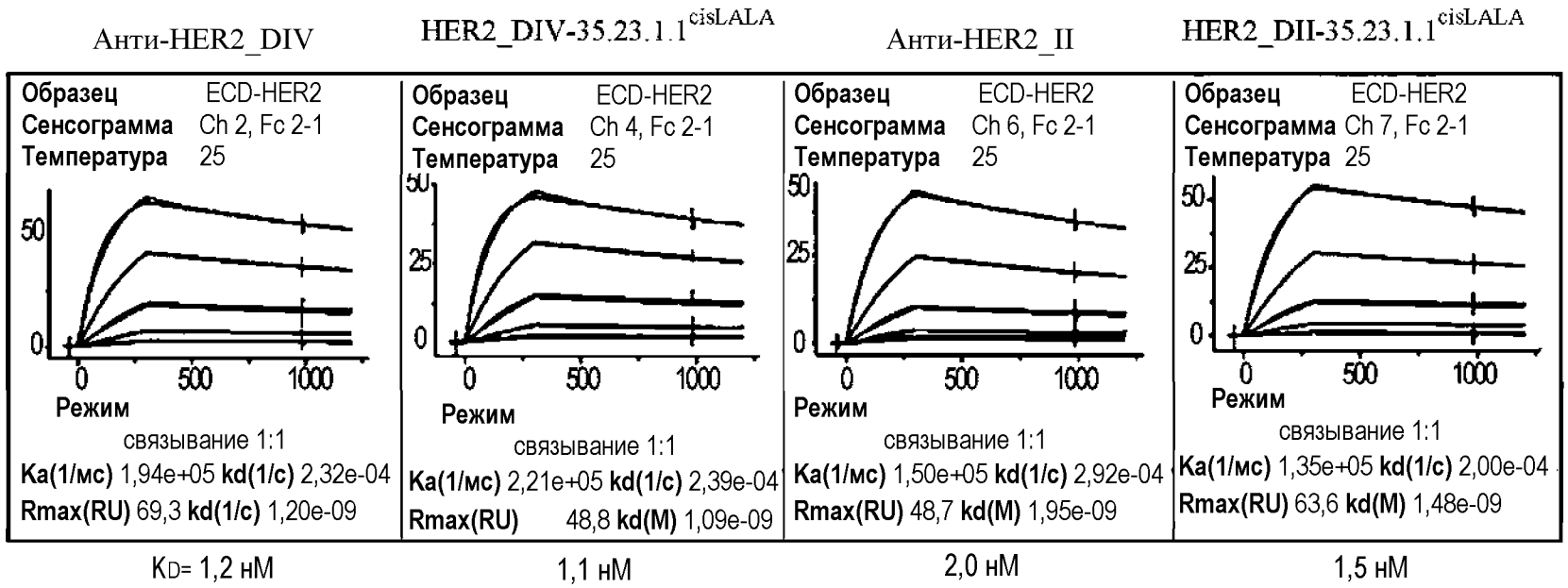
причем вариабельная область антитела первого слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, и

при этом вариабельная область антитела второго слитого белка димер полипептида Fc-вариабельная область антитела содержит две вариабельные области тяжелой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, и две вариабельные области легкой цепи антитела, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

164. Способ по любому из пп. 152-163, в котором субъект ранее не получал терапию анти-HER2 и/или химиотерапию метастатических заболеваний.

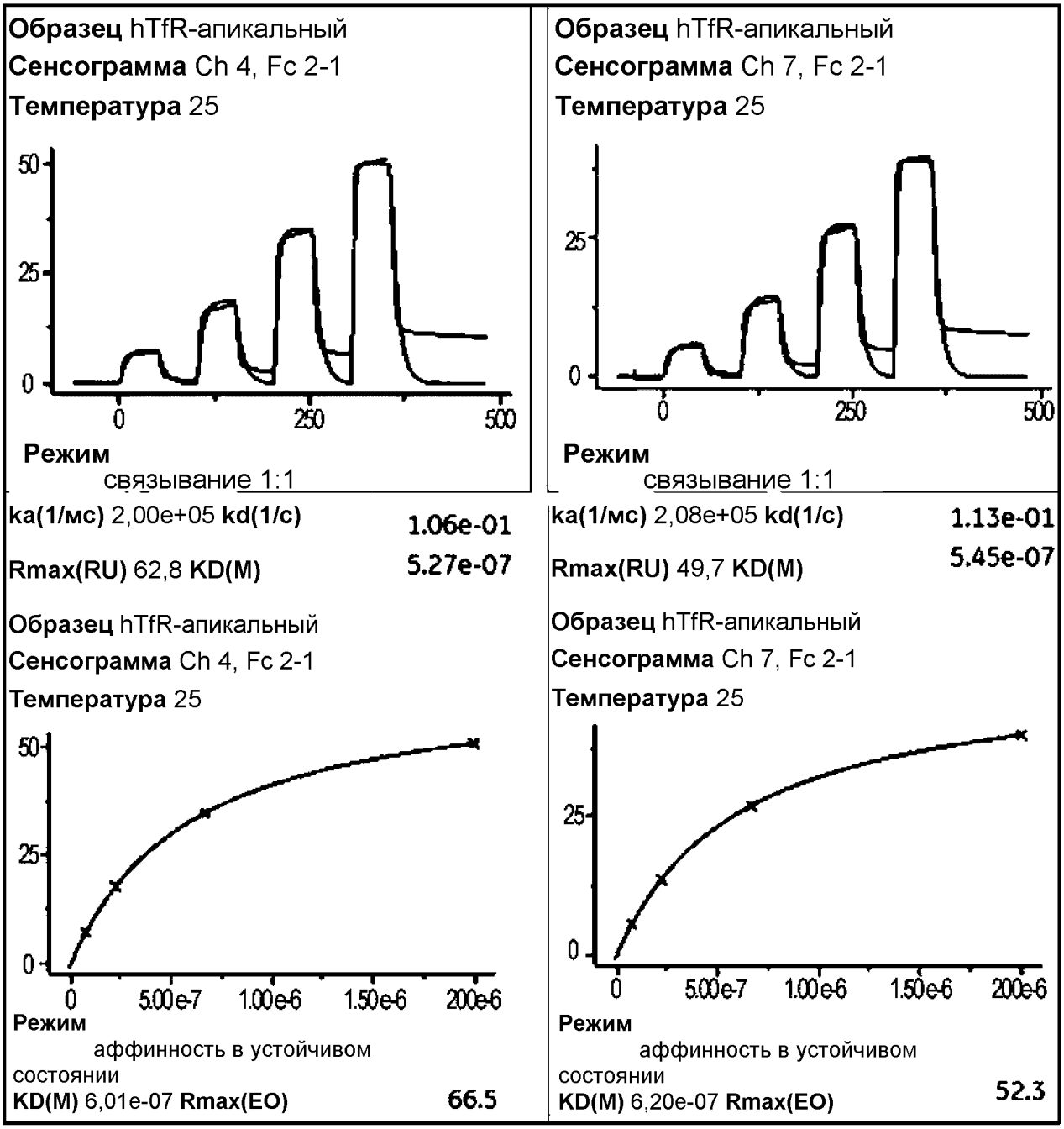
ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

Фиг. 1A



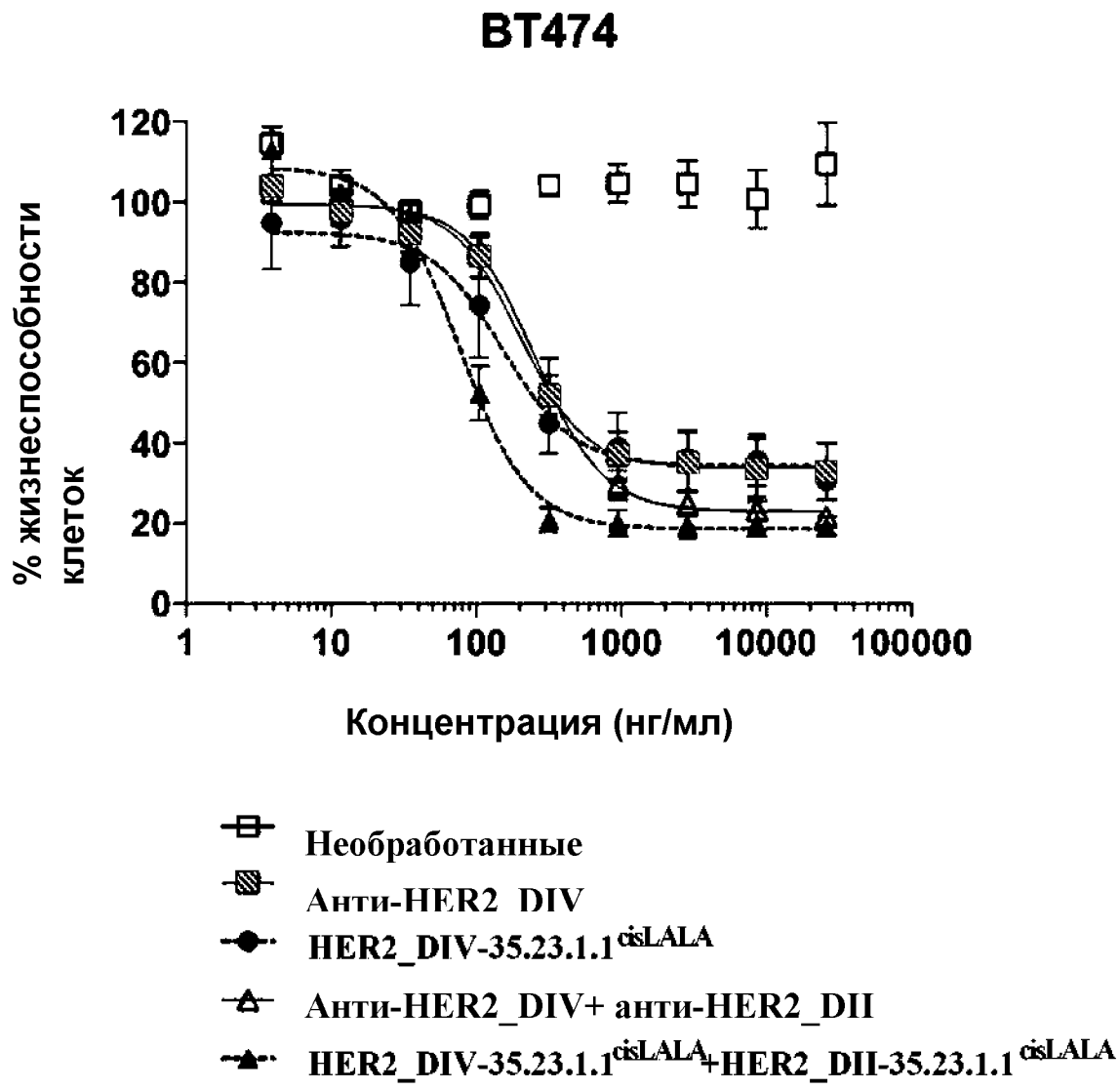
Фиг. 1B

HER2_DIV-35.23.1.1^{cisLALA} HER2_DII-35.23.1.1^{cisLALA}

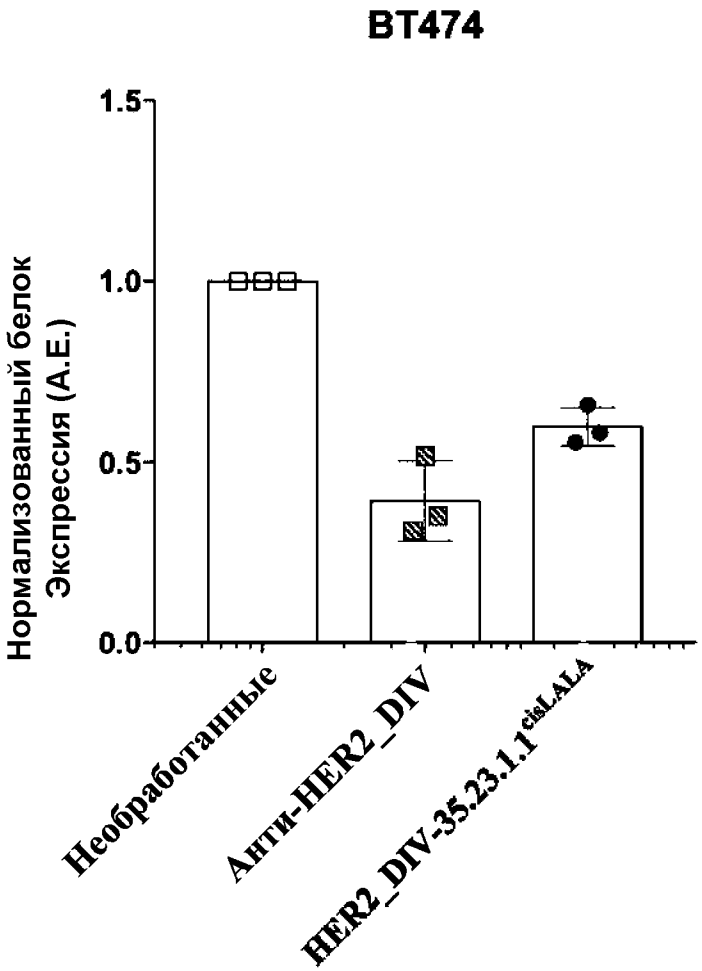


K_D= 601 нМ 620 нМ

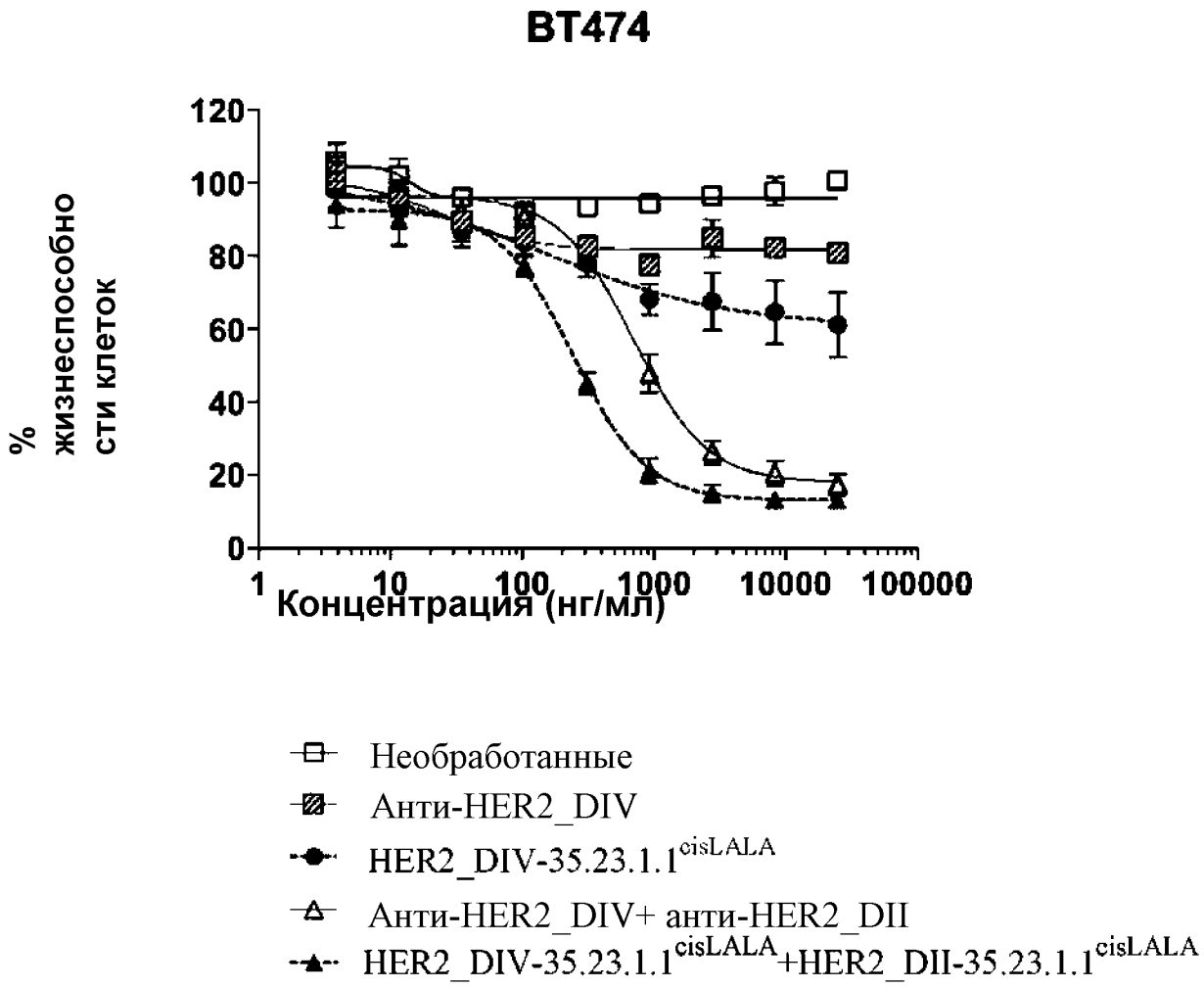
На фиг. 2


BT474
% жизнеспособности клеток
120
100
80
60
40
20
0
1
10
100
1000
10000
100000
Концентрация (нг/мл)
Необработанные
Анти-HER2 DIV
HER2_DIV-35.23.1.1cisLALA
Анти-HER2_DIV+ анти-HER2_DII
HER2_DIV-35.23.1.1cisLALA+HER2_DII-35.23.1.1cisLALA

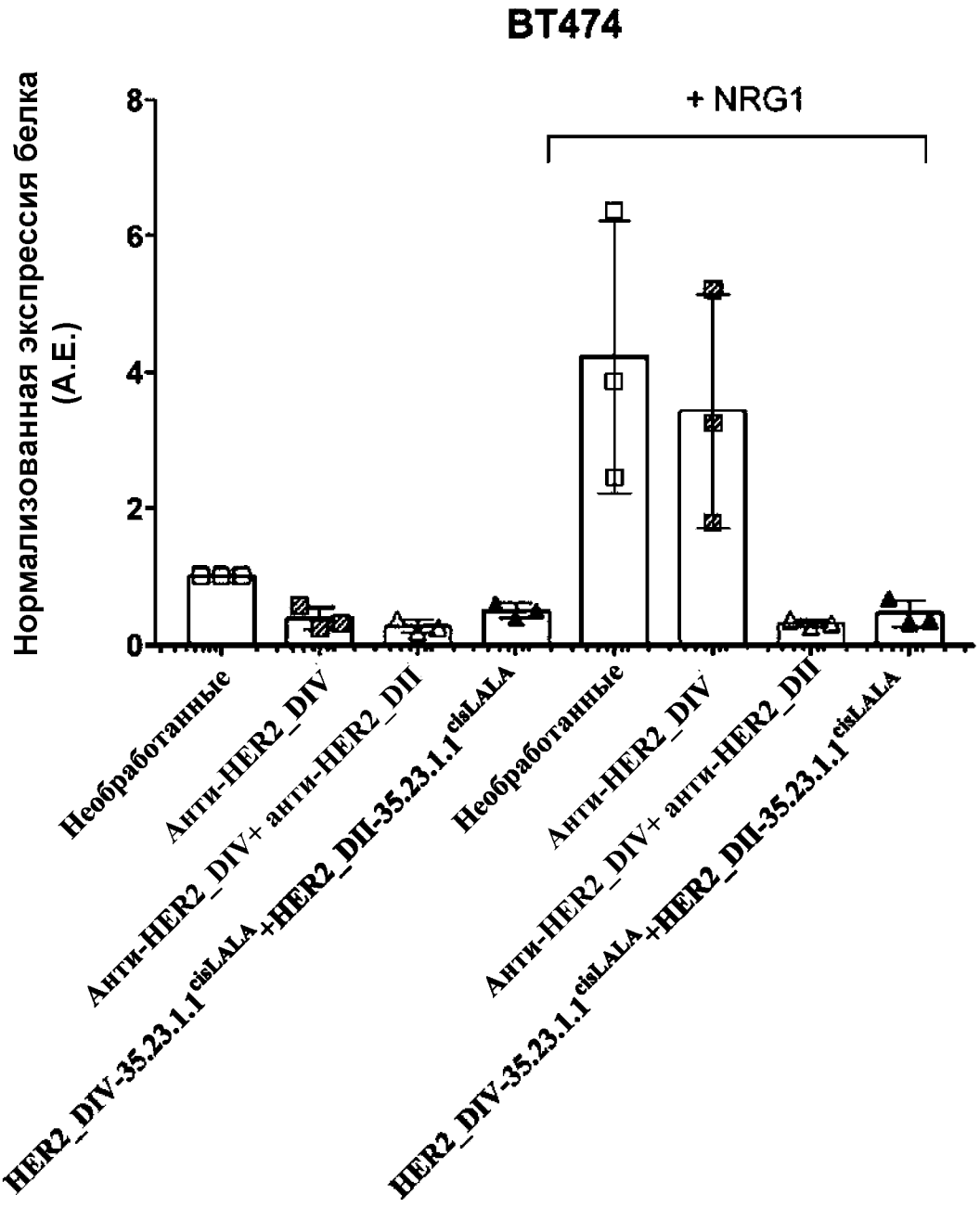
На фиг. 3


BT474
Нормализованный белок
Экспрессия (А.Е.)
1.5
1.0
0.5
0.0
Необработанные
Анти-HER2_DIV
HER2_DIV-35.23.1.1 cysLALA

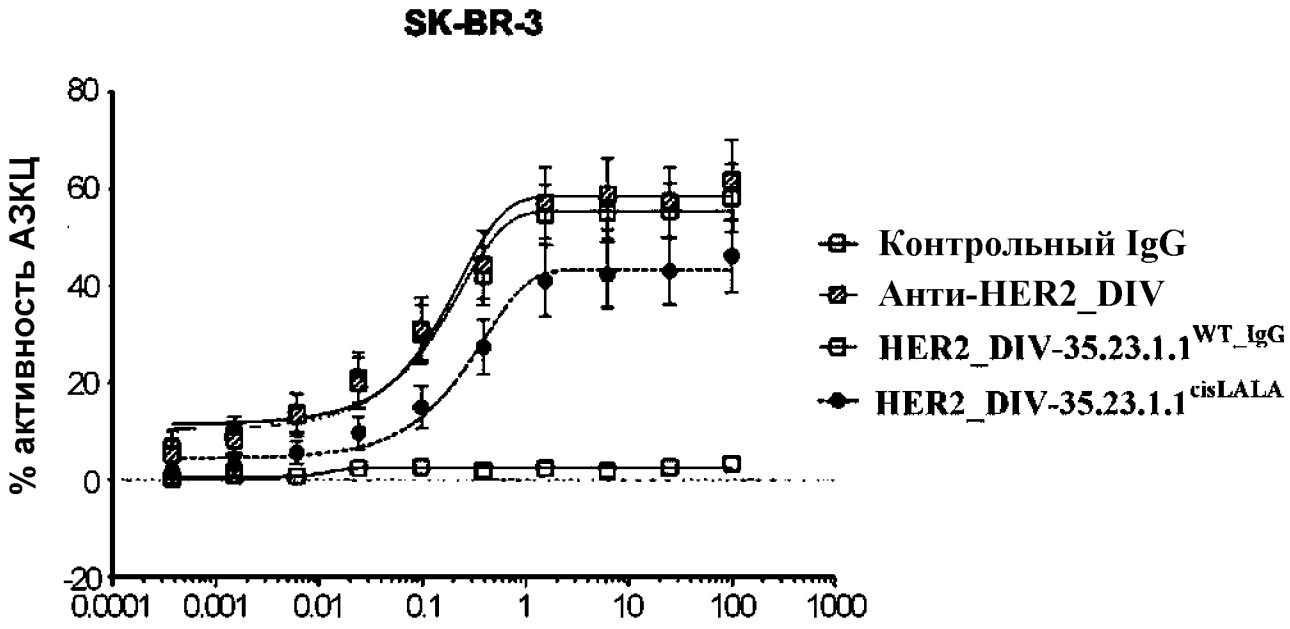
Фиг. 4


BT474
% жизнеспособности клеток
120
100
80
60
40
20
0
1
10
100
1000
10000
100000
Концентрация (нг/мл)
Необработанные
Анти-HER2_DIV
HER2_DIV-35.23.1.1cisLALA
Анти-HER2_DIV+ анти-HER2_DII
HER2_DIV-35.23.1.1cisLALA+HER2_DII-35.23.1.1cisLALA

На фиг. 5


BT474
+ NRG1
Нормализованная экспрессия белка (А.Е.)
8
6
4
2
0
Необработанные
Анти-HER2_DIV
Анти-HER2_DII
Анти-HER2_DIV+ анти-HER2_DII
HER2_DIV-35.23.1.1 cisLALA
HER2_DII-35.23.1.1 cisLALA
HER2_DIV-35.23.1.1 cisLALA+HER2_DII-35.23.1.1 cisLALA

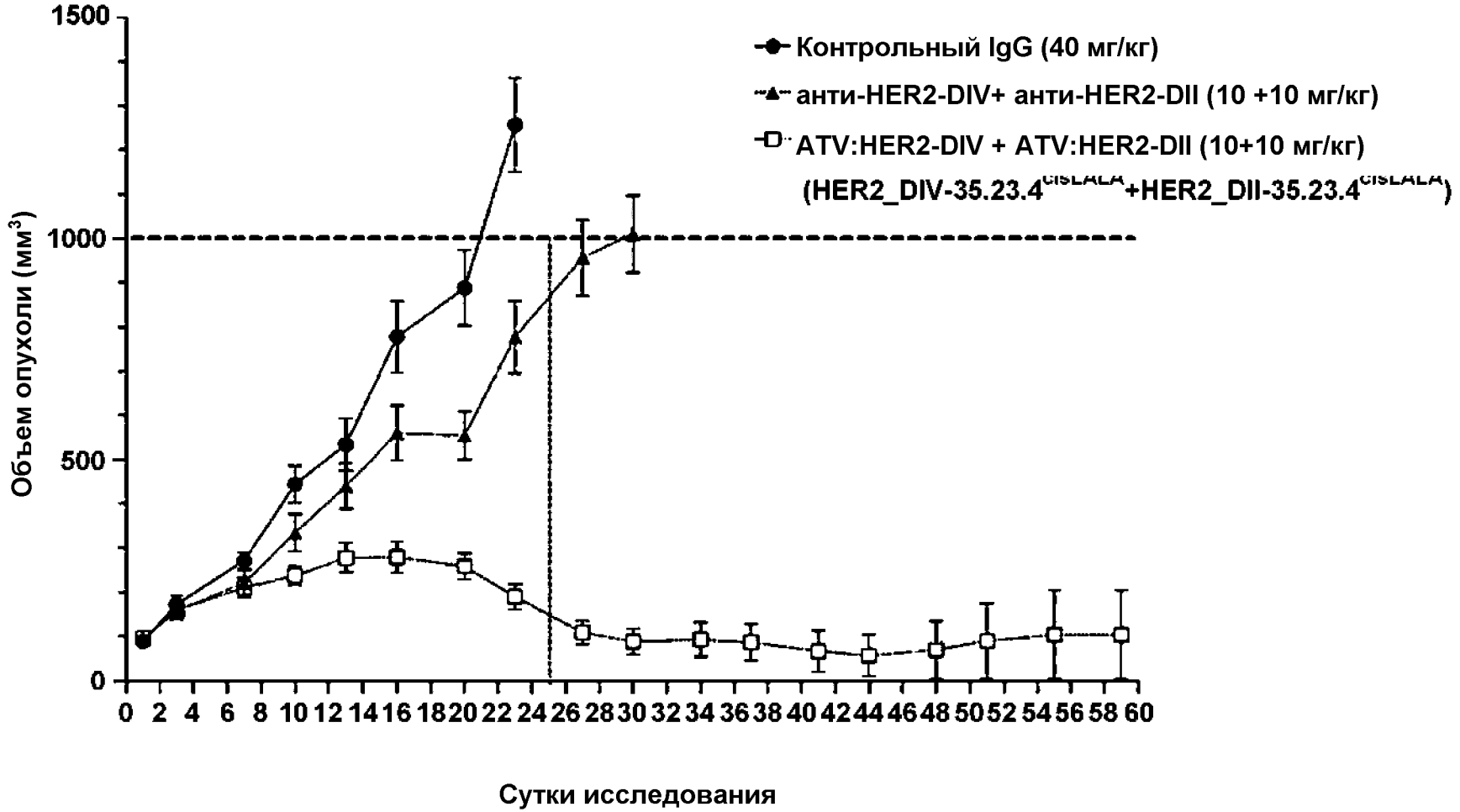
На фиг. 6


SK-BR-3
% активность АЗКЦ
80
60
40
20
0
-20
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
Контрольный IgG
Анти-HER2_DIV
HER2_DIV-35.23.1.1WT_IgG
HER2_DIV-35.23.1.1cisLALA

На фиг. 7А

Модель ксенотрансплантата BT474

2х раза в неделю х 4 недель, в/б, *мыши SCID*

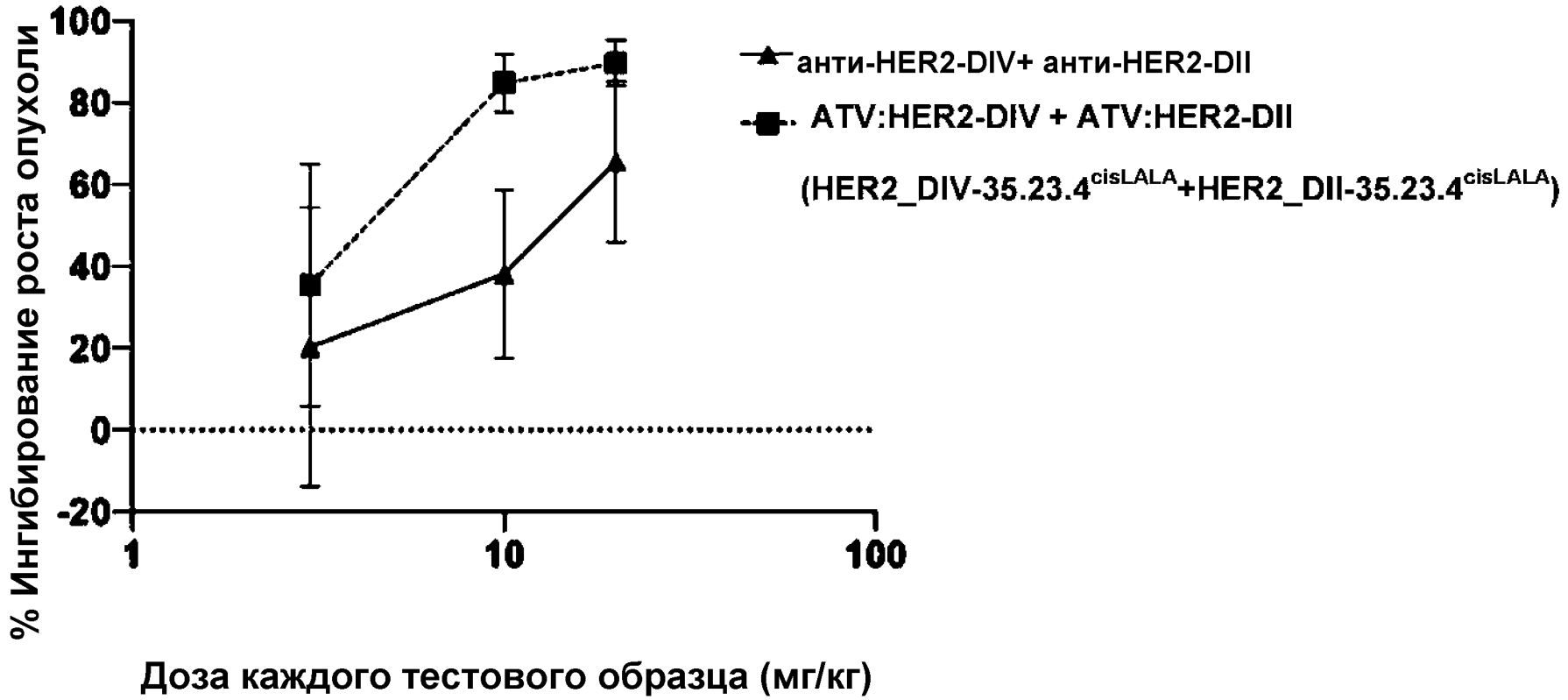


ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

На фиг. 7B

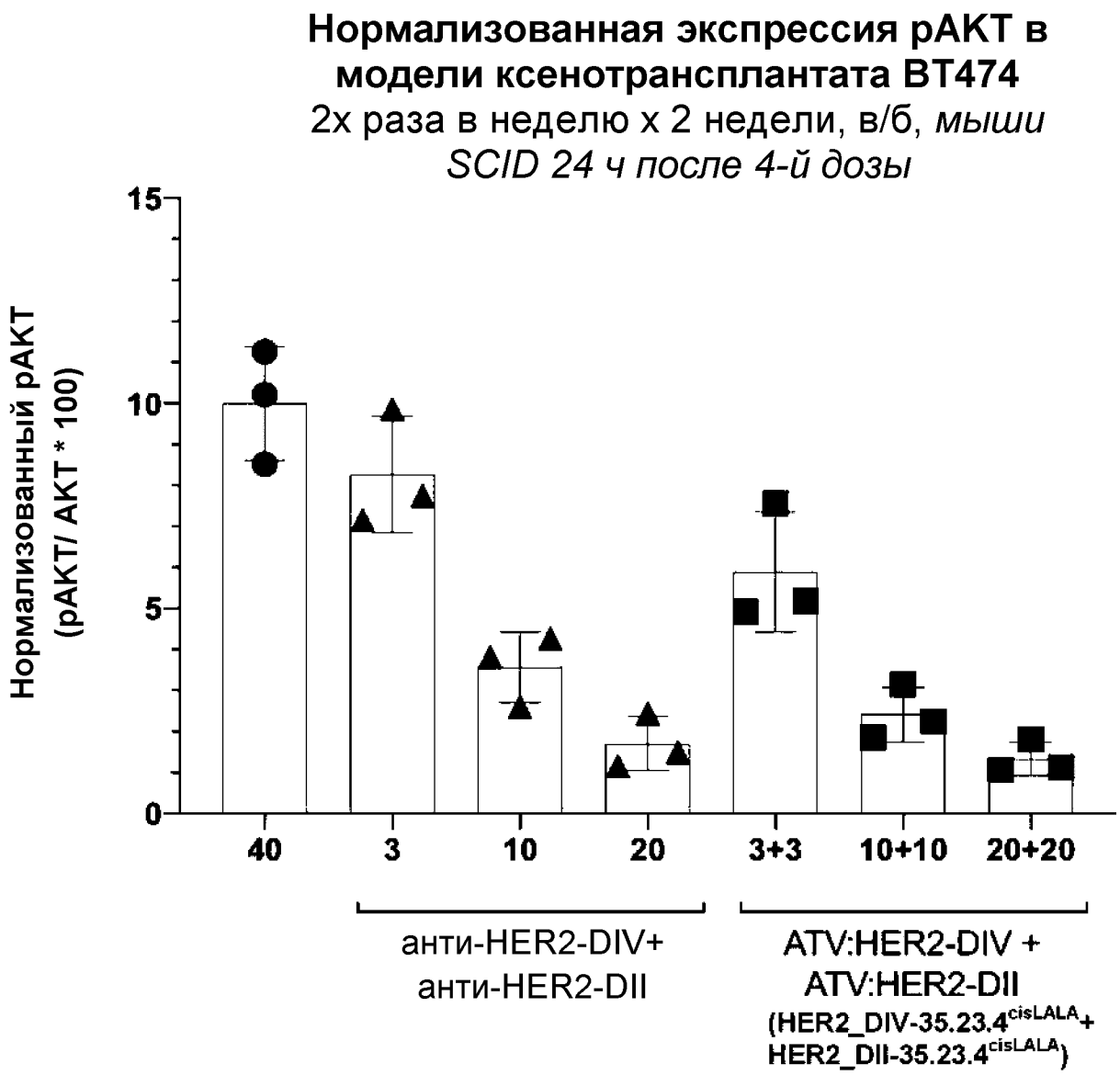
Модель ксенотрансплантата BT474

2х раза в неделю х 4 недель, в/б, *мыши SCID*

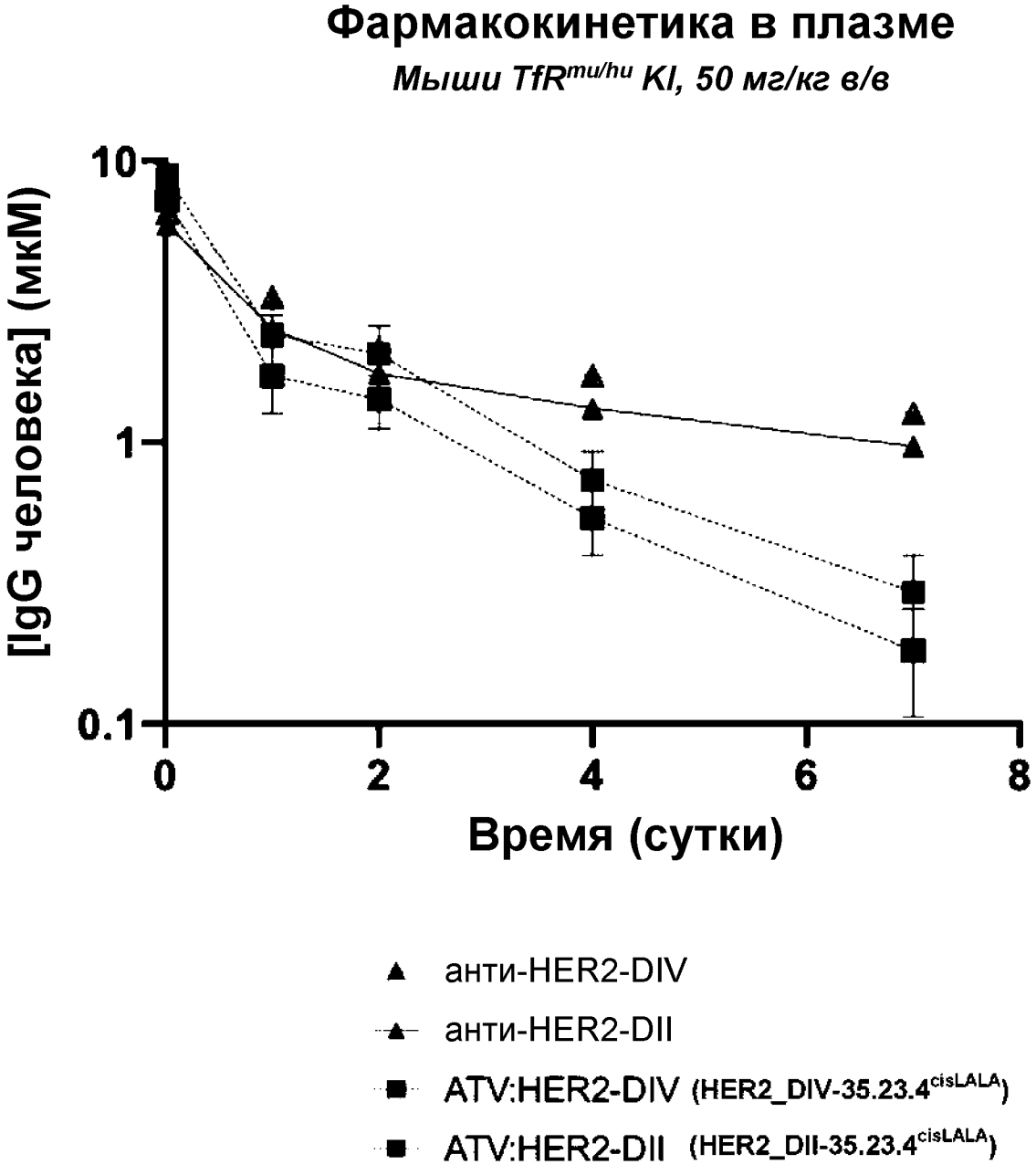


ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

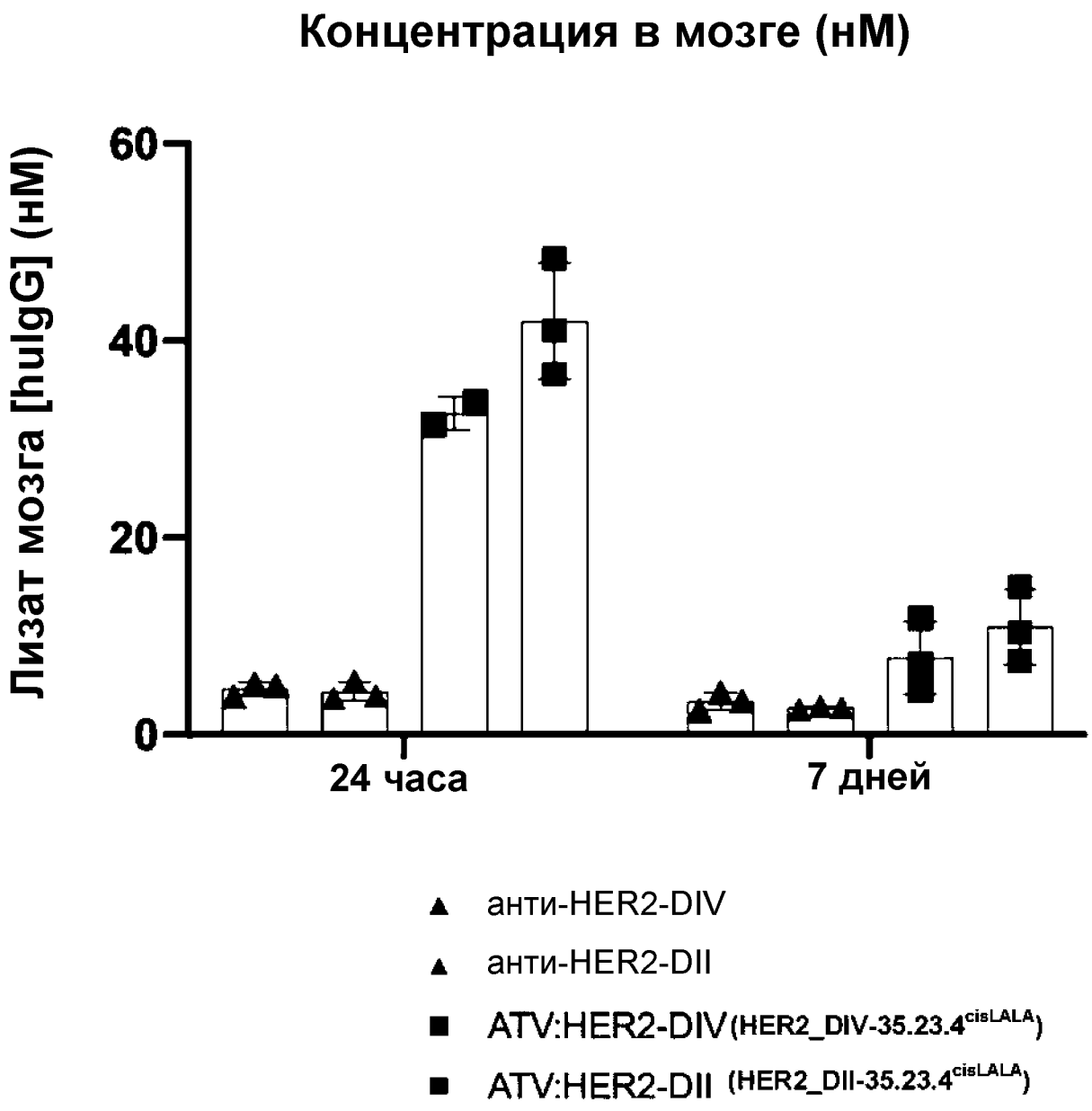
На фиг. 7C


Нормализованная экспрессия pAKT в модели ксенотрансплантата BT474
2х раза в неделю х 2 недели, в/б, мыши SCID 24 ч после 4-й дозы
Нормализованный pAKT (pAKT/ AKT * 100)
15
10
5
0
40
3
10
20
3+3
10+10
20+20
анти-HER2-DIV+ анти-HER2-DII
ATV:HER2-DIV + ATV:HER2-DII (HER2_DIV-35.23.4cisLALA+ HER2_DII-35.23.4cisLALA)

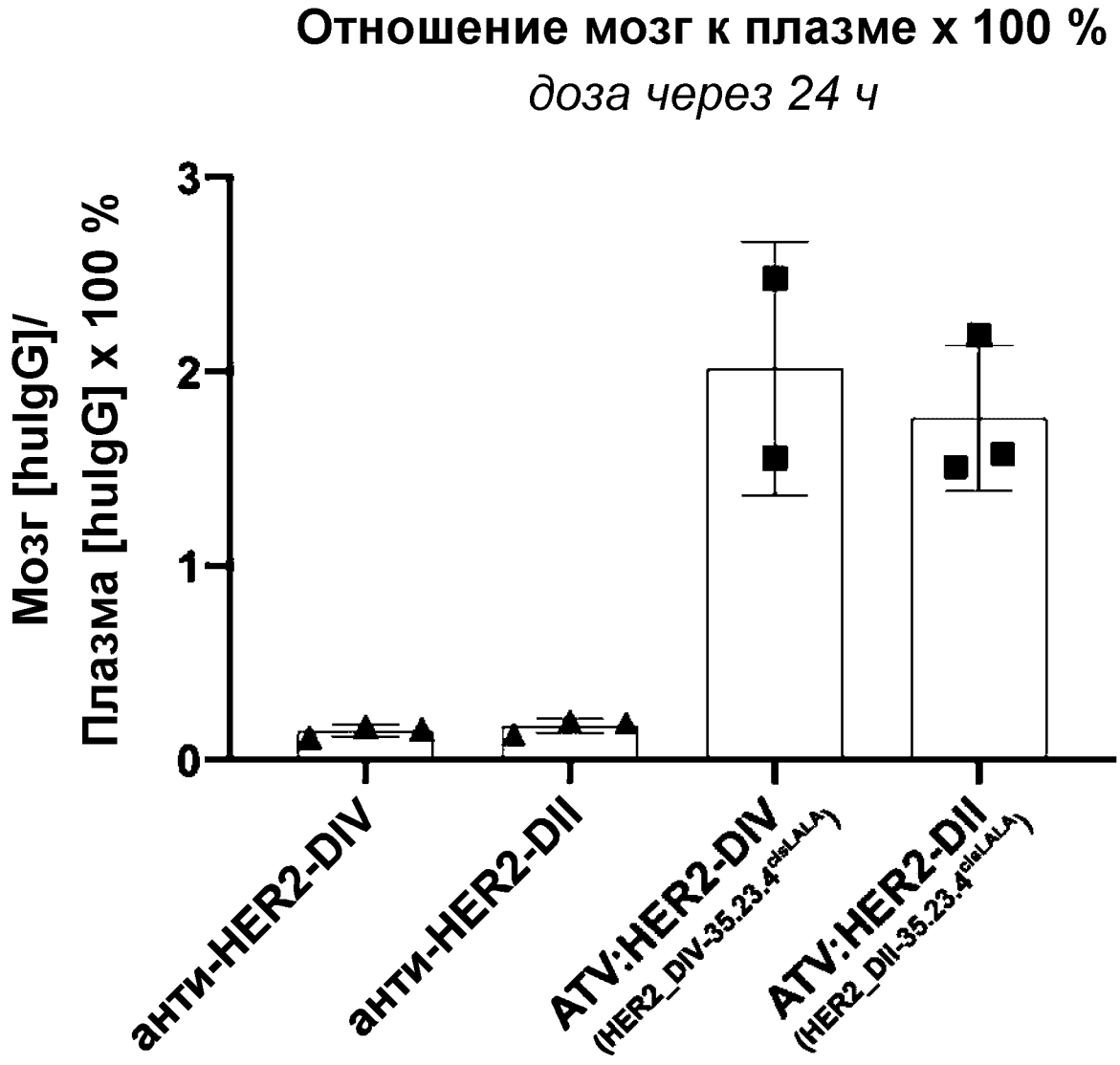
На фиг. 8A


Фармакокинетика в плазме
Мыши TfR^mu/hu KI, 50 мг/кг в/в
[IgG человека] (мкМ)
10
1
0.1
0
2
4
6
8
Время (сутки)
анти-HER2-DIV
анти-HER2-DII
ATV:HER2-DIV (HER2_DIV-35.23.4^cisLALA)
ATV:HER2-DII (HER2_DII-35.23.4^cisLALA)

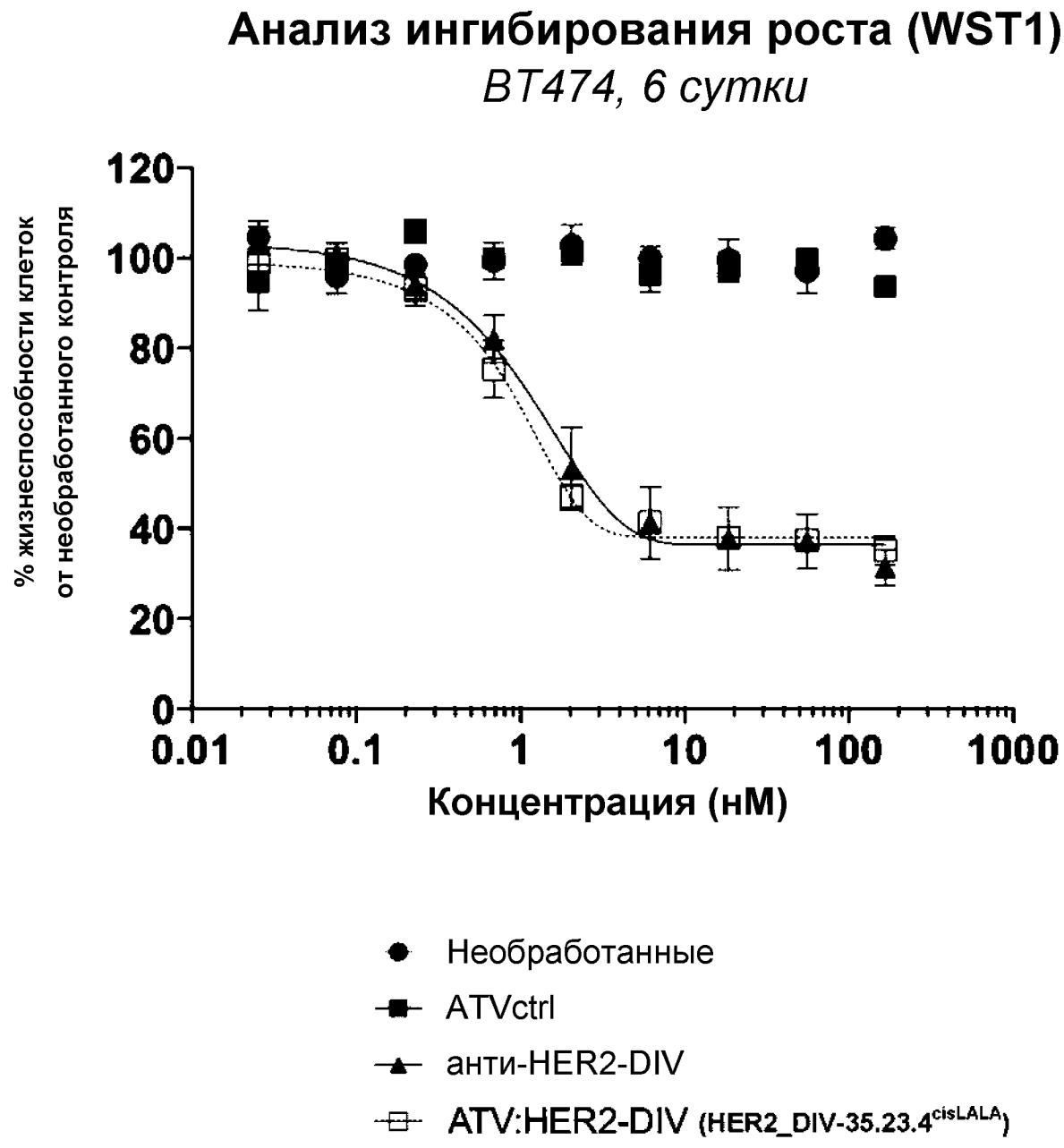
На фиг. 8B


Концентрация в мозге (нМ)
Лизат мозга [hulgG] (нМ)
60
40
20
0
24 часа
7 дней
анти-HER2-DIV
анти-HER2-DII
ATV:HER2-DIV (HER2_DIV-35.23.4cisLALA)
ATV:HER2-DII (HER2_DII-35.23.4cisLALA)

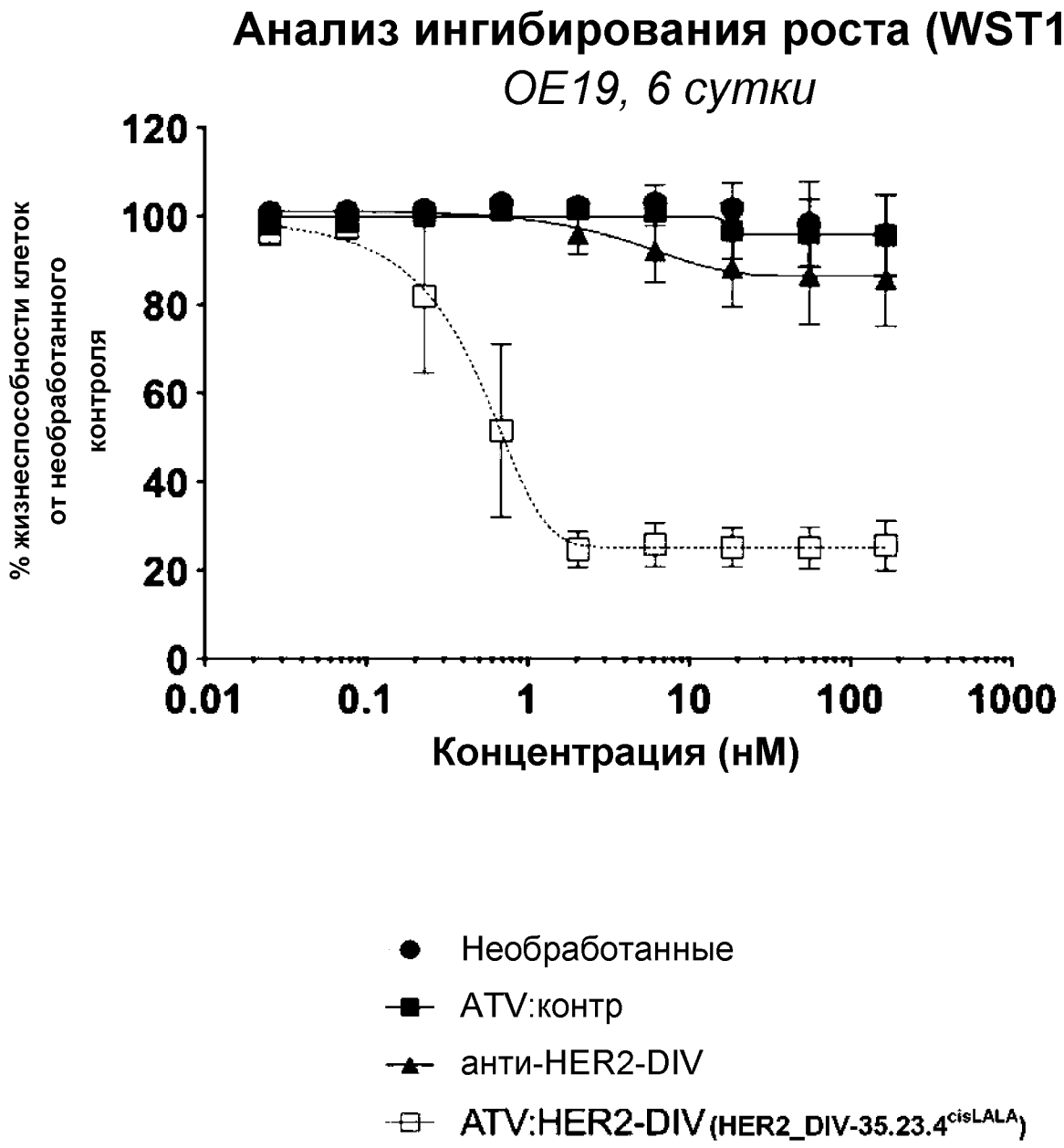
На фиг. 8C


Отношение мозг к плазме x 100 %
доза через 24 ч
Мозг [hulgG]/
Плазма [hulgG] x 100 %
3
2
1
0
анти-HER2-DIV
анти-HER2-DII
ATV:HER2-DIV
(HER2_DIV-35.23.4^cisLALA)
ATV:HER2-DII
(HER2_DII-35.23.4^cisLALA)

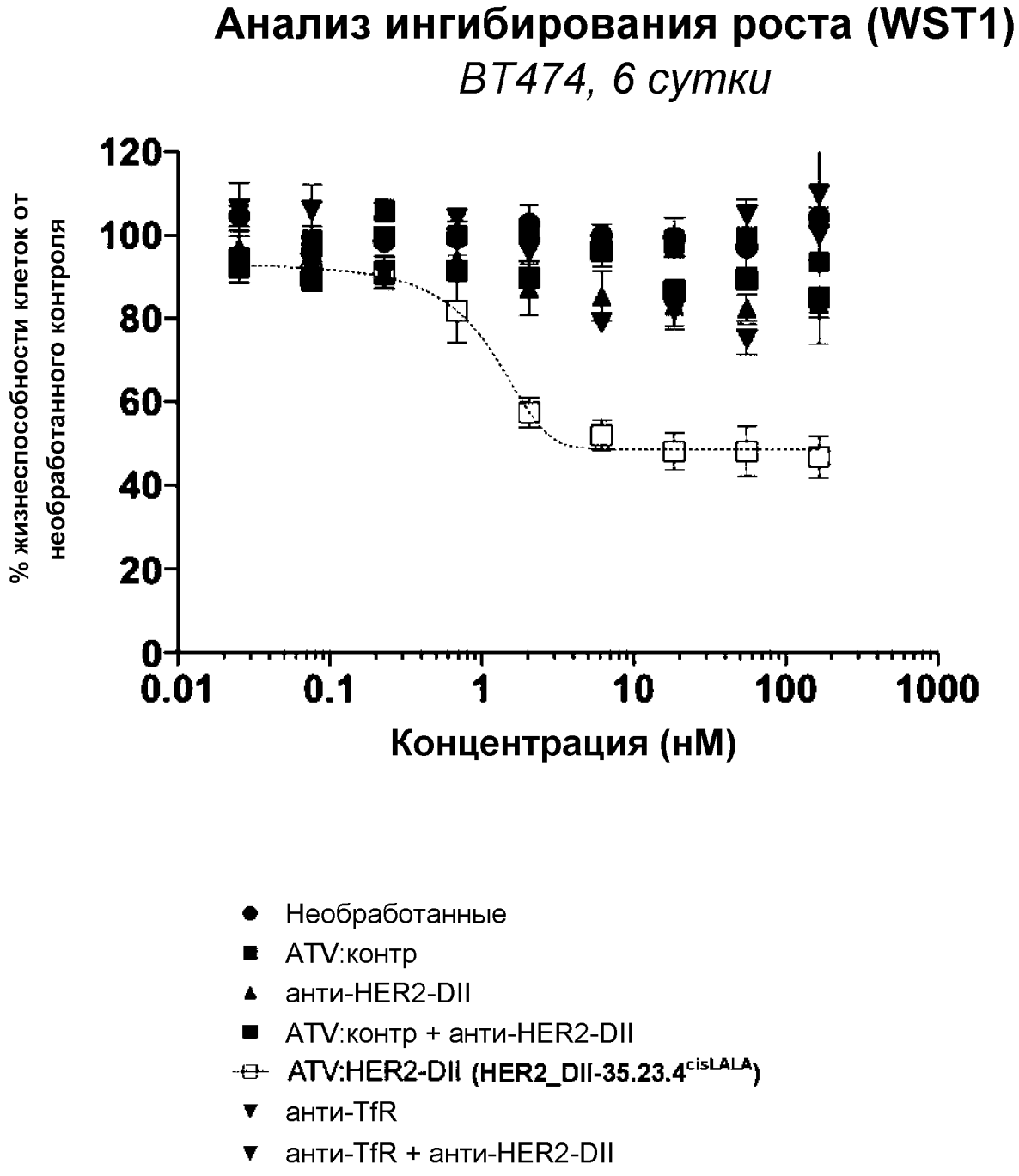
На фиг. 9A


Анализ ингибирования роста (WST1)
BT474, 6 сутки
% жизнеспособности клеток от необработанного контроля
120
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
Концентрация (нМ)
Необработанные
ATVctrl
анти-HER2-DIV
ATV:HER2-DIV (HER2_DIV-35.23.4cisLALA)

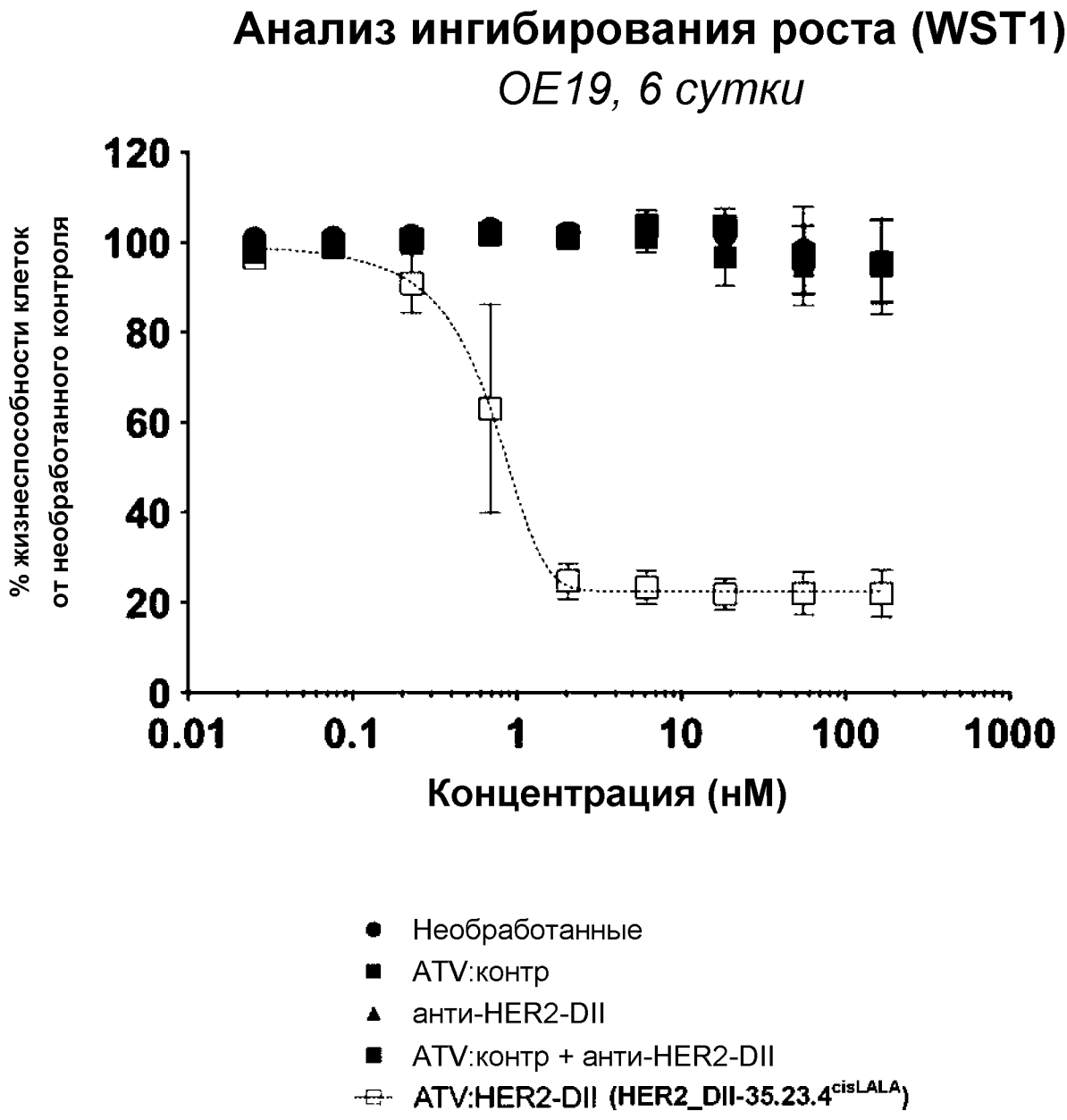
На фиг. 9B


Анализ ингибирования роста (WST1)
OE19, 6 сутки
% жизнеспособности клеток от необработанного контроля
120
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
Концентрация (нМ)
Необработанные
ATV:контр
анти-HER2-DIV
ATV:HER2-DIV (HER2_DIV-35.23.4cisLALA)

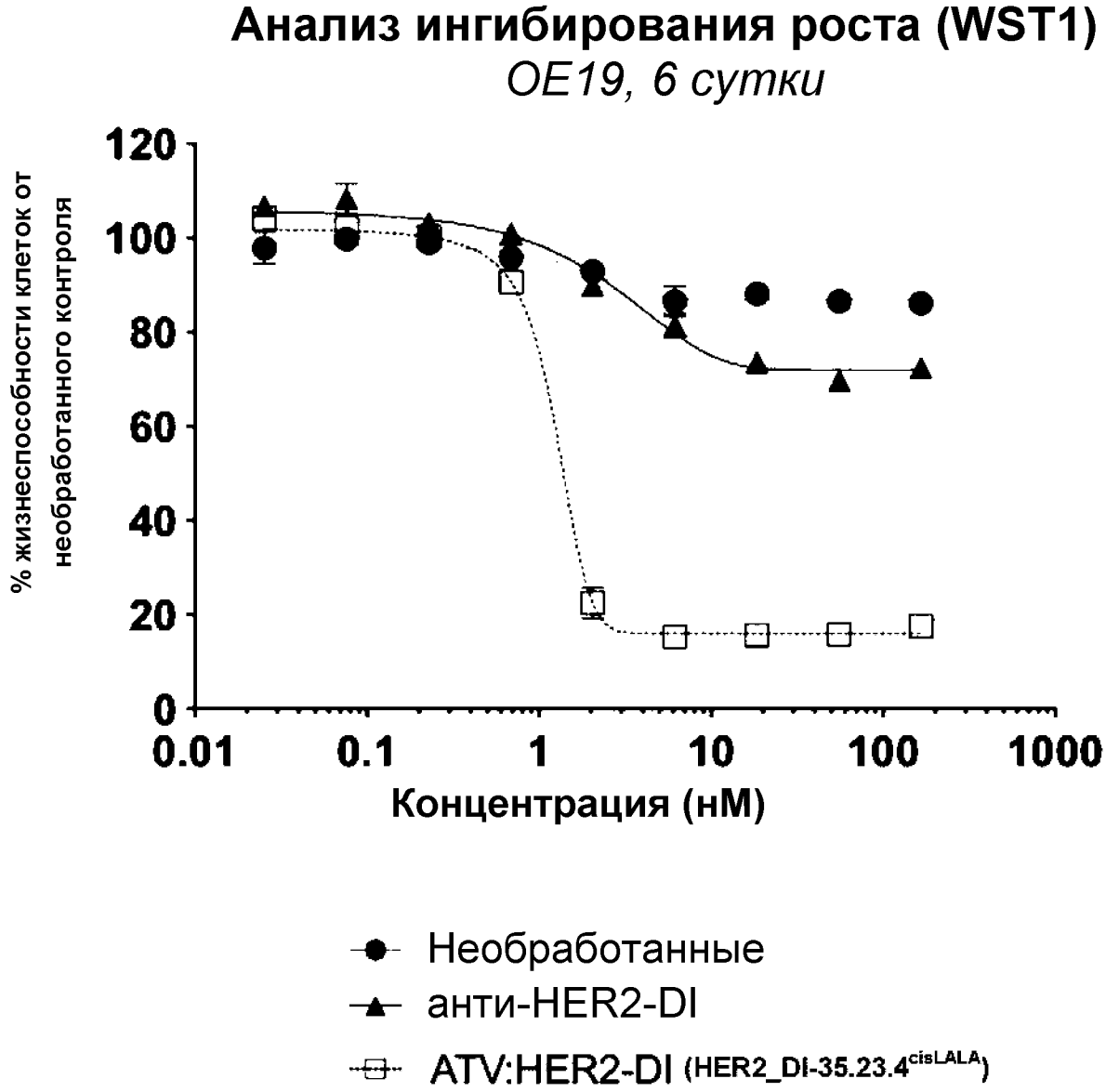
На фиг. 10A


Анализ ингибирования роста (WST1)
BT474, 6 сутки
% жизнеспособности клеток от необработанного контроля
120
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
Концентрация (нМ)
Необработанные
ATV:контр
анти-HER2-DII
ATV:контр + анти-HER2-DII
ATV:HER2-DII (HER2_DII-35.23.4cisLALA)
анти-TfR
анти-TfR + анти-HER2-DII

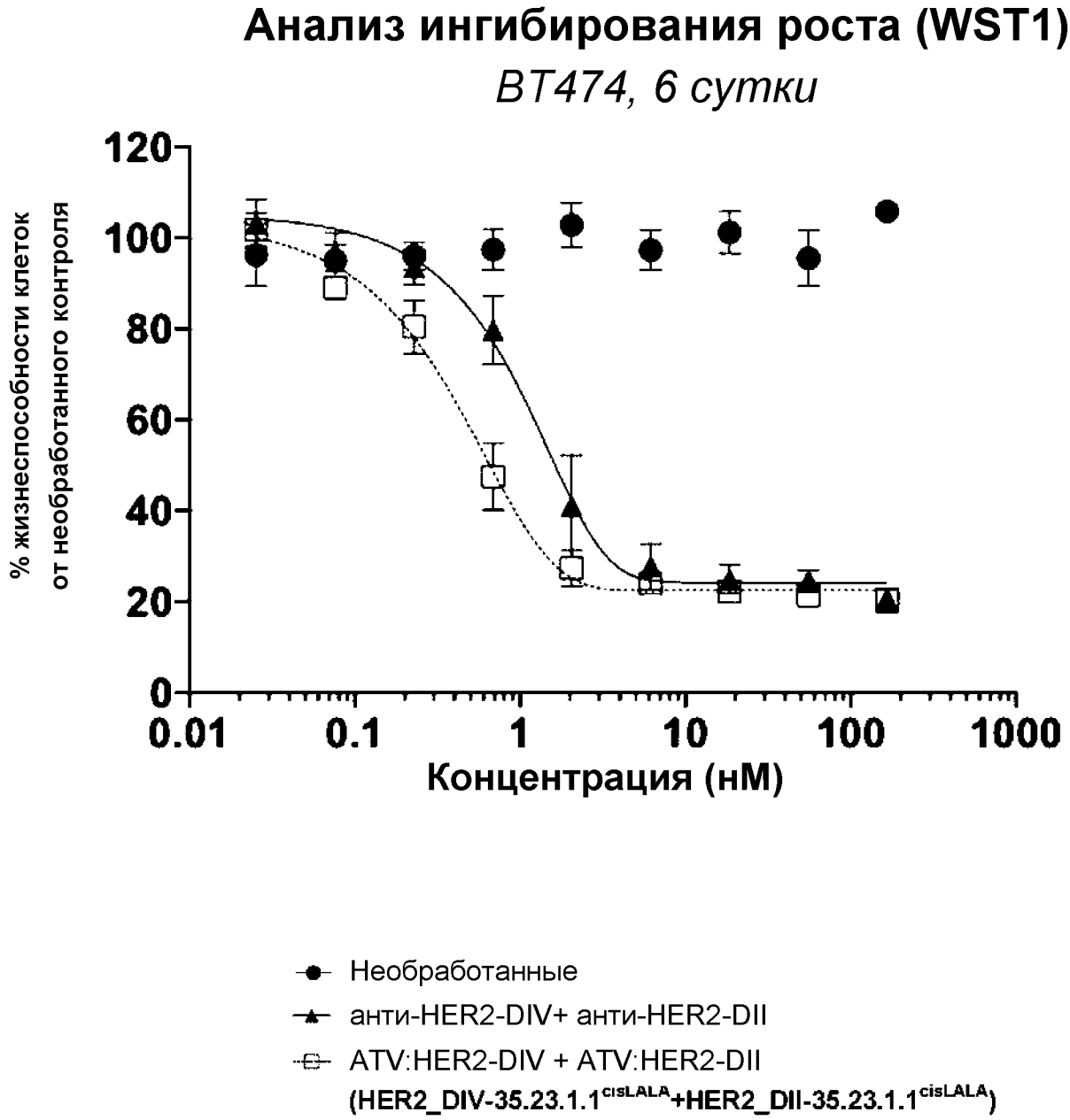
На фиг. 10B


Анализ ингибирования роста (WST1)
OE19, 6 сутки
% жизнеспособности клеток от необработанного контроля
120
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
Концентрация (нМ)
Необработанные
ATV:контр
анти-HER2-DII
ATV:контр + анти-HER2-DII
ATV:HER2-DII (HER2_DII-35.23.4cisLALA)

На фиг. 11

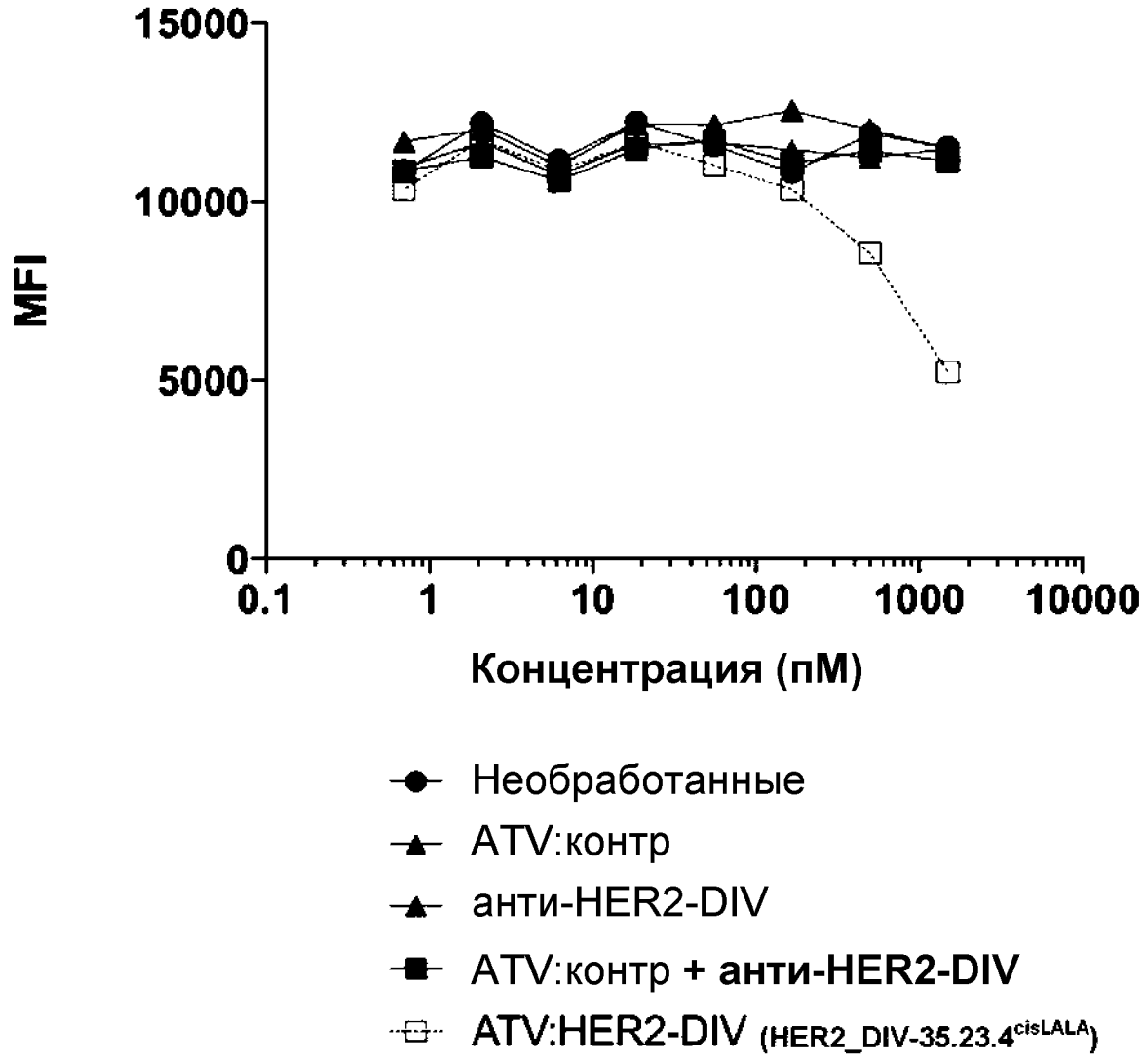

Анализ ингибирования роста (WST1)
OE19, 6 сутки
% жизнеспособности клеток от необработанного контроля
120
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
Концентрация (нМ)
Необработанные
анти-HER2-DI
ATV:HER2-DI (HER2_DI-35.23.4cisLALA)

На фиг. 12

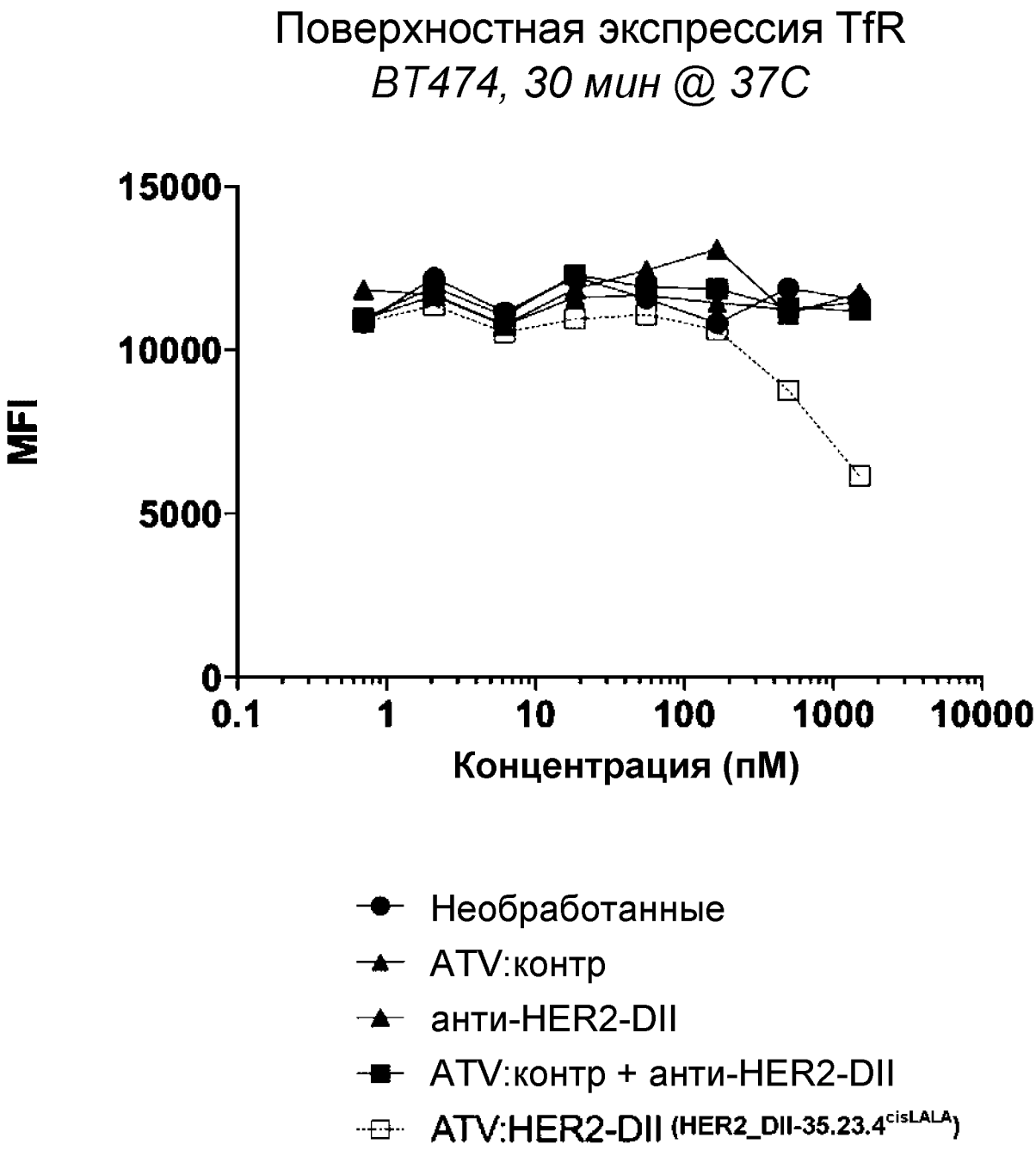

Анализ ингибирования роста (WST1)
BT474, 6 сутки
% жизнеспособности клеток от необработанного контроля
120
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
Концентрация (нМ)
Необработанные
анти-HER2-DIV+ анти-HER2-DII
ATV:HER2-DIV + ATV:HER2-DII
(HER2_DIV-35.23.1.1cisLALA+HER2_DII-35.23.1.1cisLALA)

На фиг. 13A

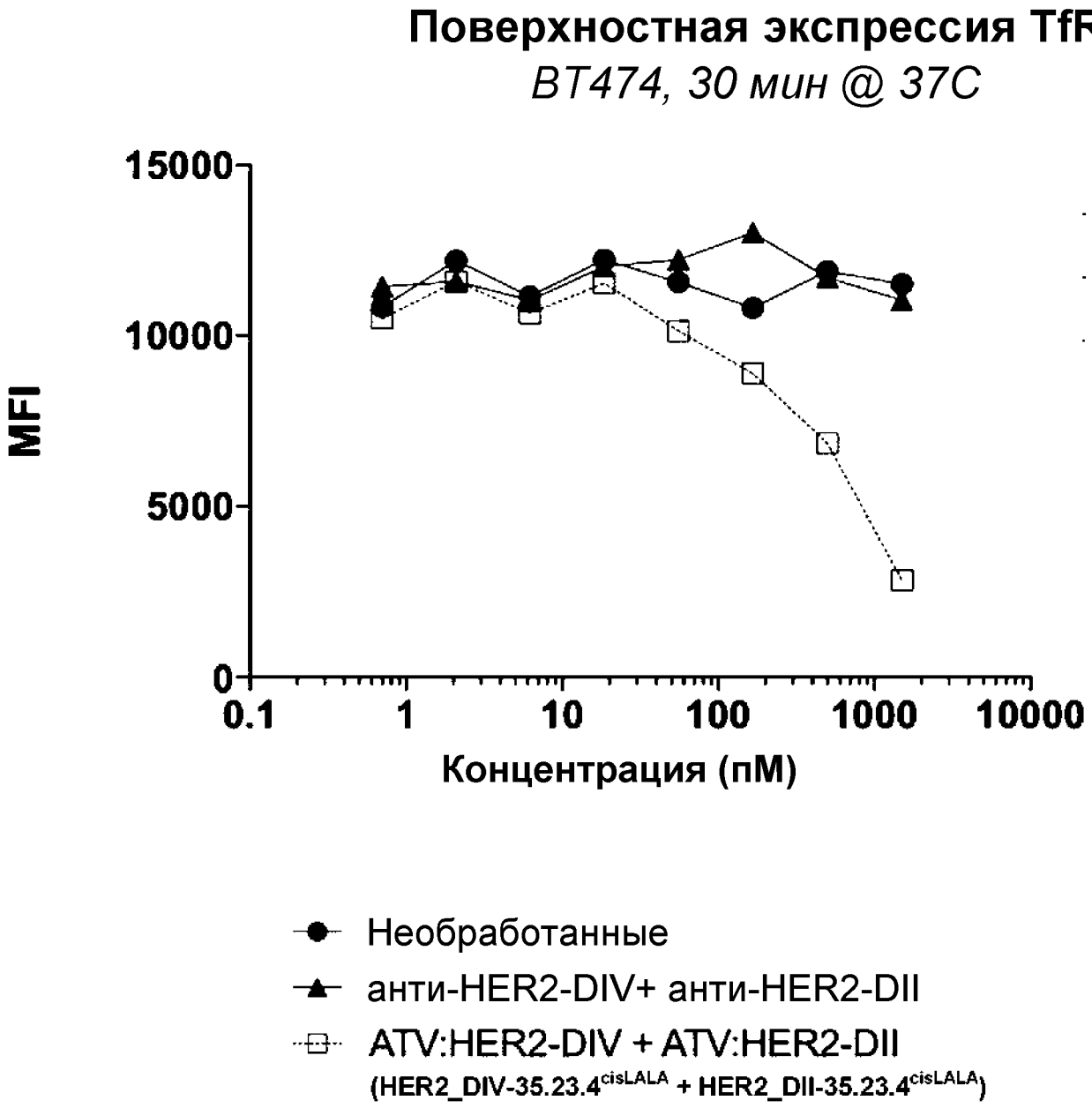
Поверхностная экспрессия TfR
BT474, 30 мин @ 37C



На фиг. 13B


Поверхностная экспрессия TfR
BT474, 30 мин @ 37C
MFI
15000
10000
5000
0
0.1
1
10
100
1000
10000
Концентрация (пМ)
Необработанные
ATV:контр
анти-HER2-DII
ATV:контр + анти-HER2-DII
ATV:HER2-DII (HER2_DII-35.23.4cisLALA)

На фиг. 13C


Поверхностная экспрессия TfR
BT474, 30 мин @ 37C
MFI
15000
10000
5000
0
0.1
1
10
100
1000
10000
Концентрация (пМ)
Необработанные
анти-HER2-DIV+ анти-HER2-DII
ATV:HER2-DIV + ATV:HER2-DII
(HER2_DIV-35.23.4cisLALA + HER2_DII-35.23.4cisLALA)