

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202190874** (13) **A1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**(43) Дата публикации заявки
2021.08.19(51) Int. Cl. *C07K 14/52* (2006.01)
C07K 14/54 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2019.09.27(54) **МАСКИРОВАННЫЕ ЦИТОКИНОВЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ**

(31) 62/737,803; 62/888,276; 62/891,199

(32) 2018.09.27; 2019.08.16; 2019.08.23

(33) US

(86) PCT/US2019/053588

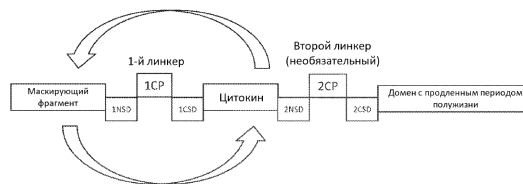
(87) WO 2020/069398 2020.04.02

(71) Заявитель:
КСИЛИО ДИВЕЛОПМЕНТ, ИНК.
(US)

(72) Изобретатель:

**Кароу Маргарет, Лай Дебора Мур,
Томар Дхираджд, Джонсон Паркер,
Розенфельд Рафаэль, О'Хейгэн Ронан,
Цю Хуавэй (US)**(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к цитокинам или их функциональным фрагментам, которые в некоторых вариантах осуществления сконструированы таким образом, чтобы маскироваться маскирующим фрагментом на одном или нескольких сайтах связывания рецептора цитокина или его функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления цитокины сконструированы таким образом, чтобы их можно было активировать протеазой в целевом сайте, например, в микроокружении опухоли, путем включения в конструкцию протеолитически расщепляемого линкера. В некоторых вариантах осуществления протеолитически расщепляемый линкер связывает цитокин с маскирующим фрагментом, связывает цитокин с доменом продления периода полужизни и/или связывает маскирующий фрагмент с доменом продления периода полужизни. Маскирующий фрагмент блокирует, затрудняет, ингибирует (например, снижает) или иным образом предупреждает (например, маскирует) активность или связывание цитокина с его когнатным рецептором или белком. После протеолитического расщепления расщепляемого линкера в целевом сайте цитокин активируется, что делает его способным связываться со своим когнатным рецептором или белком с повышенной аффинностью.



A1

202190874

202190874

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-567767EA/026

МАСКИРОВАННЫЕ ЦИТОКИНОВЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[1] Настоящая заявка заявляет приоритет предварительной заявки США № 62/737803, поданной 27 сентября 2018 г.; предварительной заявки США № 62/888276, поданной 16 августа 2019 г., и предварительной заявки США № 62/891199, поданной 23 августа 2019 г. Содержание перечисленных выше заявок включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме для всех целей.

ВКЛЮЧЕНИЕ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[2] Настоящая заявка подается совместно с перечнем последовательностей в электронном формате. Перечень последовательностей приведен в виде файла под названием 737762000940SeqList, созданного 26 сентября 2019 г., размер которого составляет 1024,111 кб. Информация в электронном формате о перечне последовательностей включена посредством ссылки в полном объеме.

Область изобретения

[3] Настоящее изобретение относится к маскированным цитокинам и способам, связанным с их применением и изготовлением.

Уровень техники

[4] Рак представляет собой вторую по значимости причину смерти в Соединенных Штатах Америки, на него приходится больше смертей, чем от следующих пяти основных причин (хроническое респираторное заболевание, инсульт, несчастные случаи, болезнь Альцгеймера и сахарный диабет). Несмотря на то, что были достигнуты большие успехи, особенно в области таргетных видов терапии, в этой области еще предстоит проделать большую работу. Иммунотерапия и раздел этой области, иммуноонкология, создают перспективные и интересные терапевтические возможности для лечения злокачественных новообразований. В частности, в настоящее время признано, что одним из отличительных признаков рака является ускользание от иммунологического надзора, и значительные усилия позволили выявить мишени и разработать различные виды терапии в отношении этих мишеней для того, чтобы реактивировать иммунную систему для распознавания и лечения рака.

[5] Цитокиновая терапия представляет собой эффективную стратегию стимулирования иммунной системы для индукции противоопухолевой цитотоксичности. Например, альдеслейкин, рекомбинантная форма интерлейкина-2 (IL-2), был одобрен FDA для лечения метастатической почечно-клеточной карциномы и меланомы. К сожалению, цитокины, которые вводят пациентам, обычно имеют очень короткий период полужизни, что требует частого введения. Например, на этикетке продукта альдеслейкина, продаваемого под торговой маркой пролейкин, указано, что у пациентов, получавших 5-минутную внутривенную (в/в) инфузию, период полужизни препарата составил 85 минут.

Кроме того, введение высоких доз цитокина может вызвать неблагоприятные последствия для здоровья, такие как пропотевание жидкости через сосуды, вследствие системной иммунной активации. Эти результаты иллюстрируют необходимость разработки цитокиновых терапевтических средств, которые эффективно воздействуют на опухоли без побочных эффектов, ассоциированных с системной иммунной активацией. В настоящем документе предложены маскированные цитокины, их композиции и способы их применения для удовлетворения этой потребности.

[6] Все цитируемые в настоящем документе ссылки, включая заявки на патенты, патентные публикации и научную литературу, полностью включены в настоящий документ посредством ссылки, как если бы каждая отдельная ссылка была конкретно и отдельно указана для включения посредством ссылки.

КРАТКАЯ СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[7] Раскрываемое изобретение относится к конструированию и применению маскированных цитокинов или их функциональных фрагментов, которые в некоторых вариантах осуществления сконструированы таким образом, чтобы маскироваться маскирующим фрагментом на одном или нескольких сайтах связывания рецептора цитокина или его функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления цитокины сконструированы таким образом, чтобы их можно было активировать протеазой в целевом сайте, например, в микроокружении опухоли, с помощью включения протеолитически расщепляемого линкера. В некоторых вариантах осуществления протеолитически расщепляемый линкер связывает цитокин с маскирующим фрагментом, связывает цитокин с доменом продления периода полужизни и/или связывает маскирующий фрагмент с доменом продления периода полужизни. Маскирующий фрагмент блокирует, затрудняет, ингибирует (например, снижает) или иным образом предупреждает (например, маскирует) активность или связывание цитокина с его когнатным рецептором или белком. После протеолитического расщепления расщепляемого линкера в целевом сайте цитокин активируется, что делает его способным связываться со своим когнатным рецептором или белком с повышенной аффинностью.

[8] Один вариант осуществления включает маскированный цитокин, содержащий маскирующий фрагмент; и цитокин или его функциональный фрагмент, при этом маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством линкера. В одном аспекте маскированный цитокин дополнительно содержит домен продления периода полужизни, который связан либо с маскирующим фрагментом, либо с цитокином или его функциональным фрагментом.

[9] В одном варианте осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к C-концу или от C- к N-концу: а) маскирующий фрагмент; б) первый линкер; в) цитокин или его функциональный фрагмент; и d) домен продления периода полужизни. В другом варианте осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к C-концу или от C- к N-концу: а) маскирующий фрагмент; б) первый линкер; в) цитокин или его функциональный фрагмент; d) второй линкер и e) домен

продления периода полужизни. В другом варианте осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к С-концу или от С- к N-концу: а) цитокин или его функциональный фрагмент; б) первый линкер; с) маскирующий фрагмент; и d) домен продления периода полужизни; или

[10] В другом варианте осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к С-концу или от С- к N-концу: а) цитокин или его функциональный фрагмент; б) первый линкер; с) маскирующий фрагмент; d) второй линкер; и е) домен продления периода полужизни.

[11] В одном варианте осуществления цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент или полипептид IL-15 или его функциональный фрагмент.

[12] В одном варианте осуществления маскированный цитокин имеет одну или несколько аминокислотных замен в аминокислотной последовательности полипептида IL-2 или IL-15 или их функционального фрагмента. В одном варианте осуществления аминокислотные замены снижают аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении CD25 (IL-2R α).

[13] В одном варианте осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотную последовательность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента, которая повышает аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R β или IL-2R γ .

[14] В одном варианте осуществления домен продления периода полужизни представляет собой антитело или его фрагмент, и в некоторых вариантах осуществления имеет одну или несколько аминокислотных замен, изменяющих эффекторную функцию.

[15] В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент представляет собой домен кристаллизующегося фрагмента (Fc-домен) или его фрагмент.

[16] В одном варианте осуществления домен продления периода полужизни представляет собой полиаминокислотную последовательность, такую как полипептид PAS или полипептид XTEN.

[17] В одном варианте осуществления маскированный цитокин содержит второй маскирующий фрагмент, при этом второй маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством второго линкера.

[18] В одном варианте осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к С-концу или от С- к N-концу: а) первый маскирующий фрагмент; б) первый линкер; с) цитокин или его функциональный фрагмент; d) второй линкер; е) второй маскирующий фрагмент; и f) домен продления периода полужизни.

[19] В одном варианте осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к С-концу или от С- к N-концу: а) первый маскирующий фрагмент; б) первый линкер; с) цитокин или его функциональный фрагмент; d) второй линкер; е)

[25] В одном варианте осуществления домен продления периода полужизни конъюгирован с иммуностимулятором, таким как стимулятор агониста генов интерферона (STING), таким как циклический динуклеотид (CDN), таким как сGAMP, с-ди-AMP, с-ди-GMP, сAIMP, с-ди-IMP или 4-(2-хлор-6-фторбензил)-N-(фуран-2-илметил)-3-оксо-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-карбоксамид или агонист толл-подобных рецепторов (TLR), таких как TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 или TLR10.

[26] В одном варианте осуществления маскированный цитокин содержит первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни, и при этом цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни.

[27] В одном варианте осуществления первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни.

[28] Один вариант осуществления включает нуклеиновую кислоту, кодирующую маскированные цитокины, описанные в настоящем документе. Другой вариант осуществления охватывает вектор, содержащий нуклеиновую кислоту. В другом варианте осуществления клетка-хозяин содержит нуклеиновую кислоту. Другой вариант осуществления включает одну или несколько нуклеиновых кислот, кодирующих маскированные цитокины, описанные в настоящем документе. Другой вариант осуществления охватывает вектор, содержащий одну или несколько нуклеиновых кислот. Другой вариант осуществления охватывает один или несколько векторов, содержащих одну или несколько нуклеиновых кислот.

[29] В другом варианте осуществления предложен способ получения маскированного цитокина, включающий культивирование клетки-хозяина в условиях, которые приводят к образованию маскированного цитокина. В одном варианте осуществления маскированный цитокин, продуцируемый клеткой-хозяином, извлекают. Один вариант осуществления охватывает маскированный цитокин, получаемый с помощью раскрываемых способов.

[30] В одном варианте осуществления предложена композиция, содержащая раскрываемый маскированный цитокин. В другом варианте осуществления композиция дополнительно содержит противовоспалительное средство или противораковое средство, такое как ингибитор PD-1, ингибитор EGFR, ингибитор HER2, ингибитор VEGFR, ингибитор CTLA-4, ингибитор BTLA, ингибитор B7H4, ингибитор B7H3, ингибитор CSF1R, ингибитор HVEM, ингибитор CD27, ингибитор KIR, ингибитор NKG2A, агонист NKG2D, ингибитор TWEAK, ингибитор ALK, антитело, нацеливающееся на CD52, антитело, нацеливающееся на CCR4, ингибитор PD-L1, ингибитор KIT, ингибитор PDGFR, ингибитор BAFF, ингибитор HDAC, ингибитор лиганда VEGF, молекула, нацеливающаяся на CD19, молекула, нацеливающаяся на FOLR1, молекула, нацеливающаяся на DLL3, молекула, нацеливающаяся на DKK1, молекула,

нацеливающаяся на MUC1, молекула, нацеливающаяся на MUC16, молекула, нацеливающаяся на PSMA, молекула, нацеливающаяся на MSLN, молекула, нацеливающаяся на NY-ES0-1, молекула, нацеливающаяся на B7H3, молекула, нацеливающаяся на B7H4, молекула, нацеливающаяся на BCMA, молекула, нацеливающаяся на CD29, молекула, нацеливающаяся на CD151, молекула, нацеливающаяся на CD123, молекула, нацеливающаяся на CD33, молекула, нацеливающаяся на CD37, молекула, нацеливающаяся на CDH19, молекула, нацеливающаяся на CEA, молекула, нацеливающаяся на клаудин 18.2, молекула, нацеливающаяся на CLEC12A, молекула, нацеливающаяся на EGFRVIII, молекула, нацеливающаяся на EPCAM, молекула, нацеливающаяся на EPHA2, молекула, нацеливающаяся на FCRH5, молекула, нацеливающаяся на FLT3, молекула, нацеливающаяся на GD2, молекула, нацеливающаяся на глипикан 3, молекула, нацеливающаяся на gpA33, молекула, нацеливающаяся на GPRC5D, молекула, нацеливающаяся на IL-23R, молекула, нацеливающаяся на IL-1RAP, молекула, нацеливающаяся на MCSP, молекула, нацеливающаяся на RON, молекула, нацеливающаяся на ROR1, молекула, нацеливающаяся на STEAP2, молекула, нацеливающаяся на TfR, молекула, нацеливающаяся на CD166, молекула, нацеливающаяся на TPBG, молекула, нацеливающаяся на TROP2, ингибитор протеасомы, ингибитор ABL, ингибитор CD30, ингибитор FLT3, ингибитор MET, ингибитор RET, ингибитор IL-1 β , ингибитор MEK, ингибитор ROS1, ингибитор BRAF, ингибитор CD38, ингибитор RANKL, ингибитор B4GALNT1, ингибитор SLAMF7, ингибитор IDH2, ингибитор mTOR, молекула, нацеливающаяся на CD20, ингибитор BTK, ингибитор PI3K, ингибитор FLT3, ингибитор PARP, ингибитор CDK4, ингибитор CDK6, ингибитор FGFR, ингибитор RAF, ингибитор JAK1, ингибитор JAK2, ингибитор JAK3, ингибитор IL-6, ингибитор IL-17, ингибитор Smoothed, ингибитор IL-6R, ингибитор BCL2, ингибитор PTCH, ингибитор PIGF, ингибитор TGFB, агонист CD28, агонист CD3, агонист CD40, агонист GTR, агонист OX40, агонист VISTA, агонист CD137, ингибитор LAG3, ингибитор TIM3, ингибитор TIGIT и ингибитор IL-2R.

[31] В одном варианте осуществления противовоспалительное средство представляет собой ингибитор циклооксигеназы (COX), такой как ингибитор COX-1 и/или COX-2, такой как SC-560, FR122047, P6, мофезолак, TFAP, флурбипрофен, кетопрофен, цефекоксиб, рофекоксиб, мелоксикам, пироксикам, деракоксиб, парекоксиб, вальдекоксиб, эторикоксиб, производное хромен, производное хромана, N-(2-циклогексилоксинитрофенил)метансульфонамид, парекоксиб, люмиракоксиб, RS 57067, T-614, BMS-347070, JTE-522, S-2474, SVT-2016, CT-3, АВТ-963, SC-58125, нимесулид, флосулид, NS-398, L-745337, RWJ-63556, L-784512, дарбуфелон, CS-502, LAS-34475, LAS-34555, S-33516, диклофенак, мефенамовая кислота, SD-8381, ибупрофен, напроксен, кеторолак, индометацин, аспирин, напроксен, толметин, пироксикам или меклофенамат.

[32] В одном варианте осуществления противовоспалительное средство представляет собой ингибитор NF- κ B, такой как ингибитор комплекса ИКК, ингибитор

расщепления IκB, ингибитор ядерной транслокации NF-κB, ингибитор ацетилирования p65, ингибитор связывания ДНК NF-κB, ингибитор трансактивации NF-κB или ингибитор индукции p53.

[33] В одном варианте осуществления ингибитор NF-κB представляет собой TRCA-1, ингибитор активации NF-κB VI (BOT-64), BMS-345541, амлексанокс, SC-514 (GK-01140), IMD-0354, IKK-16, BAY-11-7082, MG-115, MG-132, лактацистин, эпоксомидин, партенолид, карфилзомиб, MLN-4924 (певонедистат), JSH-23, ролипрам, галловая кислота, анакардовая кислота, GYY-4137, p-XSC, CV-3988, простагландин E2 (PGE2), LY-294002, вортманнин, мезаламин, хинакрин или флавопиридол.

[34] Один вариант осуществления охватывает фармацевтическую композицию, содержащую раскрываемый маскированный цитокин и фармацевтически приемлемый носитель.

[35] Другой вариант осуществления включает набор, содержащий раскрываемый маскированный цитокин.

[36] Другой вариант осуществления включает способ лечения или предупреждения неопластического заболевания у субъекта, при этом способ включает введение субъекту эффективного количества раскрываемой композиции маскированных цитокинов для лечения заболевания или состояния, такого как неопластическое заболевание, например рак. В одном варианте осуществления рак представляет собой лейкоз, лимфому, рак головы и шеи, колоректальный рак, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, меланому, рак молочной железы, нейробластому, рак легких, рак яичников, рак костей (например остеосаркому, хондросаркому, саркому Юинга), рак мочевого пузыря, рак шейки матки, рак печени, рак почки, рак кожи, рак яичек, рак надпочечников, аденоидно-кистозную карциному, рак анального канала, рак головного мозга, протоковую карциному, рак эндометрия, рак пищевода, рак желудка, рак полости рта, рак щитовидной железы, ретинобластому, рак парашитовидной железы, рак гипофиза, рак желчных протоков или рак матки. В некоторых вариантах осуществления рак выбирают из группы, состоящей из лимфомы, саркомы, рака мочевого пузыря, рака костей, опухоли головного мозга, рака шейки матки, рака толстой кишки, рака пищевода, рака желудка, рака головы и шеи, рака почки, миеломы, рака щитовидной железы, лейкоза, рака предстательной железы, рака молочной железы (например трижды негативного, ER-позитивного, ER-негативного, резистентного к химиотерапии, резистентного к герцептину, HER2-позитивного, резистентного к доксорубину, резистентного к тамоксифену, протоковой карциномы, лобулярной карциномы, первичной, метастатической), рака яичников, рака поджелудочной железы, рака печени (например гепатоцеллюлярной карциномы), рака легких (например немелкоклеточной карциномы легкого, плоскоклеточной карциномы легкого, аденокарциномы, крупноклеточной карциномы легкого, мелкоклеточной карциномы легкого, карциноида, саркомы), мультиформной глиобластомы, глиомы, меланомы, рака предстательной железы, устойчивого к кастрации рака предстательной железы, рака молочной железы, трижды негативного рака молочной железы,

глиобластомы, рака яичников, рака легких, плоскоклеточного рака (например рака головы, шеи или пищевода), колоректального рака, лейкоза, острого миелоидного лейкоза, лимфомы, В-клеточной лимфомы или множественной миеломы. Дополнительные примеры включают рак щитовидной железы, эндокринной системы, головного мозга, молочной железы, шейки матки, толстой кишки, головы и шеи, пищевода, печени, почки, легкого, немелкоклеточный рак легких, меланому, мезотелиому, рак яичников, саркому, рак желудка, рак матки или медуллобластому, болезнь Ходжкина, неходжкинскую лимфому, множественную миелому, нейробластому, глиому, мультиформную глиобластому, рак яичников, рабдомиосаркому, первичный тромбоцитоз, первичную макроглобулинемию, первичные опухоли головного мозга, злокачественную инсулиному поджелудочной железы, злокачественный карциноид, рак мочевого пузыря, предраковые поражения кожи, рак яичек, лимфомы, рак щитовидной железы, нейробластому, рак пищевода, рак мочеполовых путей, злокачественную гиперкальциемию, рак эндометрия, рак коры надпочечников, новообразования эндокринной или экзокринной части поджелудочной железы, медуллярный рак щитовидной железы, медуллярную карциному, рак щитовидной железы, меланому, колоректальный рак, папиллярный рак щитовидной железы, гепатоцеллюлярную карциному, болезнь Педжета, филоидные опухоли, дольчатую карциному, протоковую карциному, рак звездчатых клеток поджелудочной железы, рак звездчатых клеток печени или рак предстательной железы.

[37] Другой вариант осуществления включает способ лечения или предупреждения воспалительного или аутоиммунного заболевания у субъекта, при этом способ включает введение субъекту эффективного количества раскрываемой композиции маскированных цитокинов, при этом воспалительное или аутоиммунное заболевание выбирают из группы, состоящей из атеросклероза, ожирения, воспалительного заболевания кишечника (IBD), ревматоидного артрита, аллергического энцефалита, псориаза, атопического кожного заболевания, остеопороза, перитонита, гепатита, волчанки, целиакии, синдром Шегрена, ревматической полимиалгии, рассеянного склероза (MS), анкилозирующего спондилита, сахарного диабета I типа, гнездной алопеции, васкулита и височного артериита, реакции «трансплантат против хозяина» (GVHD), астмы, COPD, паранеопластического аутоиммунного заболевания, воспаления хряща, ювенильного артрита, ювенильного ревматоидного артрита, олигоартикулярного ювенильного ревматоидного артрита, полиартикулярного ювенильного ревматоидного артрита, ювенильного ревматоидного артрита с системным началом, ювенильного анкилозирующего спондилита, ювенильного энтеропатического артрита, ювенильный реактивного артрита, ювенильного синдрома Рейтера, синдрома SEA (серонегативная реакция, энтезопатия, суставной синдром), ювенильного дерматомиозита, ювенильного псориазического артрита, ювенильной склеродермии, ювенильной системной красной волчанки, ювенильного васкулита, олигоартикулярного ревматоидного артрита, ревматоидного артрита с системным началом, энтеропатического артрита, реактивного артрита, синдрома Рейтера, дерматомиозита, псориазического артрита, склеродермии,

васкулита, миолита, полимиолита, дерматомиолита, узелкового полиартериита, гранулематоза Вегенера, артериита, ревматической полимиалгии, саркоидоза, склероза, первичного билиарного склероза, склерозирующего холангита, псориаза, бляшечного псориаза, каплевидного псориаза, инверсного псориаза, пустулезного псориаза, эритродермического псориаза, дерматита, атопического дерматита, атеросклероза, болезни Стилла, системной красной волчанки (SLE), миастении гравис, болезни Крона, язвенного колита, целиакии, риносинусита, риносинусита с полипами, эозинофильного эзофогита, эозинофильного бронхита, болезни Гийена-Барре, тиреоидита (например болезни Грейвса), болезни Аддисона, феномена Рейно, аутоиммунного гепатита, отторжения трансплантата, повреждения почек, васкулита, индуцированного гепатитом С, и спонтанной потери беременности.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[38] На **Фиг. 1А** и **Фиг. 1В** изображена структура иллюстративных вариантов маскированного цитокина, который содержит маскирующий фрагмент, цитокин или его функциональный фрагмент («цитокин»), домен продления периода полужизни и первый линкер, который содержит первый расщепляемый пептид («1СР»), первый N-концевой спейсерный домен («1NSD») и первый С-концевой спейсерный домен («1СSD»). Эти иллюстративные варианты осуществления также включают второй линкер, который содержит второй расщепляемый пептид («2СР»), второй N-концевой спейсерный домен («2NSD») и второй С-концевой спейсерный домен («2СSD»). Как изображено стрелками, несмотря на то, что в иллюстративных вариантах осуществления представлен маскирующий фрагмент, связанный с первым линкером, и цитокин или его функциональный фрагмент связан с первым линкером и вторым линкером, маскирующий фрагмент и цитокин или его функциональный фрагмент могут быть заменены таким образом, что цитокин или его функциональный фрагмент связан с первым линкером, а маскирующий фрагмент связан с первым линкером и вторым линкером. На **Фиг. 1А** изображена структура иллюстративного варианта маскированного цитокина в качестве мономера. На **Фиг. 1В** изображена структура иллюстративного варианта маскированного цитокина в виде гомодимера, образованного дисульфидными связями.

[39] На **Фиг. 2А** и **Фиг. 2В** изображена структура иллюстративных вариантов маскированного цитокина, который содержит первый маскирующий фрагмент («маска 1»), цитокин или его функциональный фрагмент («цитокин»), второй маскирующий фрагмент («маска 2»), домен продления периода полужизни, первый линкер, который содержит первый расщепляемый пептид («1СР»), первый N-концевой спейсерный домен («1NSD») и первый С-концевой спейсерный домен («1СSD») и второй линкер, который содержит второй расщепляемый пептид («2СР»), второй N-концевой спейсерный домен («2NSD») и второй С-концевой спейсерный домен («2СSD»). Эти иллюстративные варианты осуществления также включают третий линкер, который содержит третий расщепляемый пептид («3СР»), третий N-концевой спейсерный домен («3NSD») и третий С-концевой спейсерный домен («3СSD»). На **Фиг. 2А** изображена структура

иллюстративного варианта маскированного цитокина в качестве мономера. На **Фиг. 2В** изображена структура иллюстративного варианта маскированного цитокина в виде гомодимера, образованного дисульфидными связями.

[40] На **Фиг. 3А** изображена структура иллюстративного варианта маскированного цитокина, который содержит маскированный фрагмент, цитокин или его функциональный фрагмент («цитокин»), первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни. Иллюстративный вариант осуществления, изображенный на **Фиг. 3А**, также включает первый линкер, который содержит первый расщепляемый пептид («1СР»), первый N-концевой спейсерный домен («1NSD») и первый С-концевой спейсерный домен («1СSD»), и второй линкер, который содержит второй расщепляемый пептид («2СР»), второй N-концевой спейсерный домен («2NSD») и второй С-концевой спейсерный домен («2СSD»). Иллюстративные первый и второй домены продления периода полужизни содержат модификации «выступы во впадины», которые способствуют ассоциации первого домена продления периода полужизни со вторым доменом продления периода полужизни, как представлено с помощью «впадины» в первом домене продления периода полужизни и «выступе» во втором домене продления периода полужизни. Первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни также изображены как ассоциирующие, по меньшей мере частично, вследствие образования дисульфидных связей. Следует понимать, что, несмотря на то, что «впадина» изображена как часть первого домена продления периода полужизни (связанного с маскирующим фрагментом), а «выступ» изображен как часть второго домена продления периода полужизни (связанного с цитокином), «впадина» и «выступ» в качестве альтернативы могут быть включены во второй домен продления периода полужизни и первый домен продления периода полужизни соответственно таким образом, что «впадина» представляет собой часть второго домена продления периода полужизни (связанного с цитокином), а «выступ» представляет собой часть первого домена продления периода полужизни (связанного с маскирующим фрагментом). На **Фиг. 3В** изображена структура иллюстративного варианта маскированного цитокина, который содержит маскирующий фрагмент, цитокин или его функциональный фрагмент («цитокин»), первый домен продления периода полужизни, второй домен продления периода полужизни и третий линкер, который содержит третий N-концевой спейсерный домен («3NSD») и третий С-концевой спейсерный домен («3СSD»). Третий линкер связывает первый домен продления периода полужизни со вторым доменом продления периода полужизни. Иллюстративный вариант осуществления, представленный на **Фиг. 3В**, также включает первый линкер, который содержит первый расщепляемый пептид («1СР»), первый N-концевой спейсерный домен («1NSD») и первый С-концевой спейсерный домен («1СSD»), и второй линкер, который содержит второй расщепляемый пептид («2СР»), второй N-концевой спейсерный домен («2NSD») и второй С-концевой спейсерный домен («2СSD»).

[41] На **Фиг. 4** изображен димер иллюстративного маскированного цитокина,

изображенного на **Фиг. 3А**, образуемый с помощью дисульфидных связей.

[42] На **Фиг. 5А** изображена структура иллюстративного варианта осуществления маскированного цитокина, который содержит первый маскирующий фрагмент («маска 1»), первый домен продления периода полужизни, второй маскирующий фрагмент («маска 2»), цитокин или его функциональный фрагмент («цитокин») и второй домен продления периода полужизни. Иллюстративный вариант осуществления, изображенный на **Фиг. 5А**, также включает первый линкер, который содержит первый расщепляемый пептид («1СР»), первый N-концевой спейсерный домен («1NSD») и первый С-концевой спейсерный домен («1СSD»), второй линкер, который содержит второй расщепляемый пептид («2СР»), второй N-концевой спейсерный домен («2NSD») и второй С-концевой спейсерный домен («2СSD»), и третий линкер, который содержит третий расщепляемый пептид («3СР»), третий N-концевой спейсерный домен («3NSD») и третий С-концевой спейсерный домен («3СSD»). Следует понимать, что, несмотря на то, что «впадина» изображена как часть первого домена продления периода полужизни (связанного с маскирующим фрагментом), а «выступ» изображен как часть второго домена продления периода полужизни (связанного с цитокином), «впадина» и «выступ» в качестве альтернативы могут быть включены во второй домен продления периода полужизни и первый домен продления периода полужизни соответственно таким образом, что «впадина» представляет собой часть второго домена продления периода полужизни (связанного с цитокином), а «выступ» представляет собой часть первого домена продления периода полужизни (связанного с маскирующим фрагментом). На **Фиг. 5В** изображена структура иллюстративного варианта маскированного цитокина, который содержит первый маскирующий фрагмент («маска 1»), первый домен продления периода полужизни, второй маскирующий фрагмент («маска 2»), цитокин или его функциональный фрагмент («цитокин»), второй домен продления периода полужизни и четвертый линкер, который содержит четвертый N-концевой спейсерный домен («4NSD») и четвертый С-концевой спейсерный домен («4СSD»). Четвертый линкер связывает первый домен продления периода полужизни со вторым доменом продления периода полужизни. Иллюстративный вариант осуществления, представленный на **Фиг. 5В**, также включает первый линкер, который содержит первый расщепляемый пептид («1СР»), первый N-концевой спейсерный домен («1NSD») и первый С-концевой спейсерный домен («1СSD»), второй линкер, который содержит второй расщепляемый пептид («2СР»), второй N-концевой спейсерный домен («2NSD») и второй С-концевой спейсерный домен («2СSD»), и третий линкер, который содержит третий расщепляемый пептид («3СР»), третий N-концевой спейсерный домен («3NSD») и третий С-концевой спейсерный домен («3СSD»). Как изображено стрелками на **Фиг. 5А** и **5В**, несмотря на то, что в иллюстративном варианте осуществления представлен второй маскирующий фрагмент, связанный с третьим линкером, и цитокин или его функциональный фрагмент связан с третьим линкером и вторым линкером, первый маскирующий фрагмент и цитокин или его функциональный фрагмент могут быть заменены таким образом, что цитокин или его

функциональный фрагмент связан с третьим линкером, а первый маскирующий фрагмент связан с третьим линкером и вторым линкером.

[43] На **Фиг. 6** изображен димер иллюстративного маскированного цитокина, изображенного на **Фиг. 5А**, образуемый с помощью дисульфидных связей.

[44] На **Фиг. 7А-7Е** изображены иллюстративные варианты осуществления маскированных цитокинов до (слева) и после (справа) расщепления протеазой, например, в микроокружении опухоли. На **Фиг. 7А-7Д** изображены иллюстративные варианты осуществления маскированного цитокина IL-2, и на **Фиг. 7Е** изображен иллюстративный вариант маскированного цитокина IL-15. Расщепление протеазой высвобождает маскирующий фрагмент (например IL-2R β , как изображено на **Фиг. 7А, 7В** и **7Д**), или высвобождает IL-2 (**Фиг. 7С**), или высвобождает IL-15 (**Фиг. 7Е**).

[45] На **Фиг. 8** изображен анализ SDS-PAGE для проточных (FT) образцов (т.е., белков, которые не связались с белком А колонки) и элюированных (E) образцов (т.е., белков, которые связались с белком А колонки и были элюированы из нее) после получения и очистки типичных конструкций (AK304, AK305, AK307, AK308, AK309, AK310, AK311, AK312, AK313, AK314 и AK315).

[46] На **Фиг. 9А-9Д** изображены результаты анализа SPR, в котором исследовали связывание иллюстративных маскированных полипептидных конструкций IL-2 (AK215 и AK216) или контроля rhIL2 с CD25-Fc. На **Фиг. 9А** изображено взаимодействие между AK215 и CD25-Fc, на **Фиг. 9В** изображено взаимодействие между AK216 и CD25-Fc, и на **Фиг. 9С** изображено взаимодействие между контрольным рекомбинантным человеческим IL2 (rhIL2) и CD25-Fc. На **Фиг. 9Д** представлена таблица, обобщающая данные, полученные для константы ассоциации (k_a), константы диссоциации (k_d), константы равновесной диссоциации (KD), а также значение χ^2 и U-значение для каждого взаимодействия.

[47] На **Фиг. 10А-10Д** изображены результаты анализа SPR, в котором исследовали связывание иллюстративных маскированных полипептидных конструкций IL-2 (AK216 и AK218) или контроля rhIL2 с CD122-Fc. На **Фиг. 10А** изображено взаимодействие между AK216 и CD122-Fc, на **Фиг. 10В** изображено взаимодействие между AK218 и CD122-Fc, и на **Фиг. 10С** изображено взаимодействие между контролем рекомбинантным человеческим IL2 (rhIL2) и CD122-Fc. На **Фиг. 10Д** представлена таблица, обобщающая данные, полученные для константы ассоциации (k_a), константы диссоциации (k_d), константы равновесной диссоциации (KD), а также значение χ^2 и U-значение для каждого взаимодействия.

[48] На **Фиг. 11А** изображен иллюстративный вариант осуществления маскированных цитокинов до (слева) и после (справа) расщепления протеазой, например, в микроокружении опухоли. На **Фиг. 11В** изображен анализ SDS-PAGE иллюстративной конструкции маскированного полипептида IL-2, который инкубировали в отсутствие (левая полоса) или в присутствии (правая полоса) протеазы MMP10, что демонстрирует высвобождение IL-2 из Fc-области.

[49] На **Фиг. 12А-12D** изображена активация STAT5 (%) в РВМС, обработанных конструкцией АК032, АК035, АК041 или rhIL-2 в качестве контроля. Уровни активации STAT5 (%) представлены для НК-клеток, CD8+ Т-клеток, эффекторных Т-клеток (Teff) и регуляторных Т-клеток (Treg), как определено после инкубации с rhIL-2 (**Фиг. 12А**), АК032 (**Фиг. 12В**), АК035 (**Фиг. 12С**) или АК041 (**Фиг. 12D**).

[50] На **Фиг. 13А-13С** изображена активация STAT5 (%) в РВМС конструкцией АК081 или АК032. Исследовали конструкцию АК081 с предварительным воздействием MMP10 и без него. Также исследовали изотипический контроль, а также отличный от IL-2 отрицательный контроль. Уровни активации STAT5 (%) изображены для НК-клеток (**Фиг. 13А**), CD8+ Т-клеток (**Фиг. 13С**) и CD4+ Т-клеток (**Фиг. 13В**).

[51] На **Фиг. 14А-14D** изображены результаты исследований активации STAT5 в РВМС с использованием конструкций АК081 и АК111, а также контролей, которые включали rhIL-2 и антитело к RSV. Также исследовали контроль без обработки. EC50 (пМ) также представлена для обработок rhIL-2, АК081 и АК111. Активация STAT5 (%) изображена для CD4+FoxP3+CD25+ клеток (**Фиг. 14А**), CD8+ клеток (**Фиг. 14В**) и CD4+FoxP3-CD25- клеток (**Фиг. 14С**). На **Фиг. 14D** изображена EC50 (рМ) и данные кратности изменения для конструкций АК081, АК111, а также для контроля rhIL-2.

[52] На **Фиг. 15А-15D** изображены результаты исследований активации STAT5 в РВМС с использованием конструкций АК167 и АК168, а также контролей, которые включали rhIL-2 и антитело к RSV. Также исследовали контроль без обработки. EC50 (пМ) также представлена для обработок rhIL-2, АК167 и АК168. Активация STAT5 (%) изображена для CD4+FoxP3+CD25+ клеток (**Фиг. 15А**), CD8+ клеток (**Фиг. 15В**) и CD4+FoxP3-CD25- клеток (**Фиг. 15С**). На **Фиг. 15D** изображена EC50 (пМ) и данные кратности изменения для конструкций АК167 и АК168, а также контроля rhIL-2.

[53] На **Фиг. 16А-16D** изображена активация STAT5 (%) в РВМС, обработанных конструкцией АК165 или АК166, или изотипическим контролем, или контролем IL-2-Fc, которые ранее подвергались (+ MMP10) или не подвергались действию протеазы MMP10. Обозначение, представленное на **Фиг. 16А**, также относится к **Фиг. 16В**, а обозначение, представленное на **Фиг. 16С**, также относится к **Фиг. 16D**. Активация STAT5 (%) изображена для CD4+FoxP3+ Т-регуляторных клеток (**Фиг. 16А**), CD4+FoxP3- Т-клеток-хелперов (**Фиг. 16В**), CD8+ цитотоксических Т-клеток (**Фиг. 16С**) и CD56+ НК-клеток (**Фиг. 16D**).

[54] На **Фиг. 17А-17С** изображена активация STAT5 (%) в РВМС, обработанных конструкцией АК109 или АК110, или изотипическим контролем, или контролем IL-2-Fc, которые ранее подвергались (+ MMP10) или не подвергались действию протеазы MMP10. Обозначение, изображенное на **Фиг. 17В**, также относится к **Фиг. 17А**. Активация STAT5 (%) изображена для НК-клеток (**Фиг. 17А**), CD8 клеток (**Фиг. 17В**) и CD4 клеток (**Фиг. 17С**).

[55] На **Фиг. 18А-18D** изображены результаты исследований активации STAT5 в РВМС с использованием конструкций АК211, АК235, АК253, АК306, АК310, АК314 и

AK316, а также контроля rhIL-2. Активация STAT5 (%) также изображена для CD3+CD4+FоxP3+ клеток (**Фиг. 18А**), CD3+CD4+FоxP3- клеток (**Фиг. 18В**) и CD3+CD8+ клеток (**Фиг. 18С**). На **Фиг. 18D** изображены данные EC50 для каждой из исследуемых конструкций, а также для контроля rhIL-2.

[56] На **Фиг. 19А-19D** изображены результаты исследований активации STAT5 в РВМС с использованием конструкций АК081, АК167, АК216, АК218, АК219, АК220 и АК223, которые активировали протеазой, а также с использованием контроля rhIL-2. Активация STAT5 (%) изображена для CD4+FоxP3+CD25+ регуляторных Т-клеток (**Фиг. 19А**), CD4+FоxP3-CD25- клеток (**Фиг. 19В**) и CD8+ клеток (**Фиг. 19С**). На **Фиг. 19D** изображены данные EC50 для каждой из исследуемых конструкций, а также для контроля rhIL-2.

[57] На **Фиг. 20А-20С** изображена активация STAT5 (%) в РВМС, обработанных конструкцией АК081, АК189, АК190 или АК210, или контролем антителом к RSV. Обозначение, изображенное на **Фиг. 20А**, также относится к **Фиг. 20В** и **20С**. Активация STAT5 (%) изображена для регуляторных Т-клеток (**Фиг. 20А**), CD4 Т-клеток-хелперов (**Фиг. 20В**) и CD8 клеток (**Фиг. 20С**).

[58] На **Фиг. 21А-21С** изображена активация STAT5 (%) в РВМС, обработанных конструкцией АК167, АК191, АК192 или АК193, или контролем антитела к RSV. Обозначение, изображенное на **Фиг. 21А**, также относится к **Фиг. 21В** и **21С**. Активация STAT5 (%) изображена для регуляторных Т-клеток (**Фиг. 21А**), CD4 Т-клеток-хелперов (**Фиг. 21В**) и CD8 клеток (**Фиг. 21С**).

[59] На **Фиг. 22А** и **22В** изображены результаты репортерных биоанализов на иллюстративной конструкции маскированного полипептида IL-15, АК248, с предварительным воздействием (+ MMP) или без предварительного воздействия активирующей протеазы или rhIL-15 в качестве контроля. На **Фиг. 22А** изображены результаты репортерного биоанализа с использованием репортерной линии клеток НЕК-Blue IL2, а на **Фиг. 22В** изображены результаты репортерного биоанализа с использованием биоанализа IL-15 с использованием клеточной линии СТLL2 мыши.

[60] На **Фиг. 23А-23D** изображены результаты фармакокинетических исследований, проведенных на мышах-опухоленосителях с использованием конструкции АК032, АК081, АК111, АК167 или АК168 или контрольного антитела к RSV. На **Фиг. 23А** представлено упрощенное изображение структуры каждой из исследованных конструкций. На **Фиг. 23В** изображены уровни Fc в плазме крови (мкг/мл) при обнаружении человеческого IgG, на **Фиг. 23С** изображены уровни Fc-CD122 в плазме крови (мкг/мл) при обнаружении человеческого CD122, а на **Фиг. 23D** изображены уровни Fc-IL2 в плазме крови (мкг/мл) при обнаружении человеческого IL-2. Перед стадией обнаружения в качестве захватывающего антитела использовали антитело к человеческому IG.

[61] На **Фиг. 24А-24D** изображены результаты фармакокинетических исследований, проведенных на мышах-опухоленосителях с использованием конструкции

AK167, AK191 AK197, AK203, AK209 или AK211, или контроля антителом к RSV. На **Фиг. 24А** представлено упрощенное изображение структуры каждой из исследованных конструкций. На **Фиг. 24В** изображены уровни Fc в плазме крови (мкг/мл) при обнаружении человеческого IgG, на **Фиг. 24С** изображены уровни Fc-IL2 в плазме крови (мкг/мл) при обнаружении человеческого IL-2, и на **Фиг. 24D** изображены уровни Fc-CD122 в плазме крови (мкг/мл) при обнаружении человеческого CD122. Перед стадией обнаружения в качестве захватывающего антитела использовали антитело к человеческому IG.

[62] На **Фиг. 25А-25L** изображены результаты исследований по изучению *in vivo* ответов процентов CD4, CD8, NK и Treg в селезенке, крови и опухоли с использованием конструкции AK032, AK081, AK111, AK167 или AK168 или контроля IgG к RSV. Для ткани селезенки изображен % CD8 клеток от CD3 клеток (**Фиг. 25А**), % CD4 от CD3 клеток (**Фиг. 25В**), % NK-клеток от CD3- клеток (**Фиг. 25С**), % FoxP3 от CD4 клеток (**Фиг. 25D**). Для крови изображен % CD8 клеток от CD3 клеток (**Фиг. 25Е**), % CD4 от CD3 клеток (**Фиг. 25F**), % Nk-клеток от CD3- клеток (**Фиг. 25G**), % FoxP3 от CD4 клеток (**Фиг. 25H**). Для ткани опухоли изображен % CD8 клеток от CD3 клеток (**Фиг. 25I**), % CD4 от CD3 клеток (**Фиг. 25J**), % NK клеток от CD3- клеток (**Фиг. 25K**), % FoxP3 от CD4 клеток (**Фиг. 25L**).

[63] На **Фиг. 26А-26L** изображены результаты исследований по изучению *in vivo* ответов процентов CD4, CD8, NK и Treg в селезенке, крови и опухоли с использованием конструкции AK167, AK168, AK191, AK197, AK203, AK209 или AK211 или контроля IgG к RSV. Для ткани селезенки изображен % CD8 клеток от CD3 клеток (**Фиг. 26А**), % CD4 от CD3 клеток (**Фиг. 26В**), % NK-клеток от CD3- клеток (**Фиг. 26С**), % FoxP3 от CD4 клеток (**Фиг. 26D**). Для крови изображен % CD8 клеток от CD3 клеток (**Фиг. 26Е**), % CD4 от CD3 клеток (**Фиг. 26F**), % Nk-клеток от CD3- клеток (**Фиг. 26G**), % FoxP3 от CD4 клеток (**Фиг. 26H**). Для ткани опухоли изображен % CD8 клеток от CD3 клеток (**Фиг. 26I**), % CD4 от CD3 клеток (**Фиг. 26J**), % NK клеток от CD3- клеток (**Фиг. 26K**), % FoxP3 от CD4 клеток (**Фиг. 26L**).

[64] На **Фиг. 27А-27L** изображены результаты исследований по изучению *in vivo* ответов процентов CD4, CD8, NK и Treg в селезенке, крови и опухоли с использованием конструкции AK235, AK191, AK192, AK193, AK210, AK189, AK190 или AK211 или контроля IgG к RSV. Для ткани селезенки изображен % CD8 клеток от CD3 клеток (**Фиг. 27А**), % CD4 от CD3 клеток (**Фиг. 27В**), % NK-клеток от CD3- клеток (**Фиг. 27С**), % FoxP3 от CD4 клеток (**Фиг. 27D**). Для крови изображен % CD8 клеток от CD3 клеток (**Фиг. 27Е**), % CD4 от CD3 клеток (**Фиг. 27F**), % Nk-клеток от CD3- клеток (**Фиг. 27G**), % FoxP3 от CD4 клеток (**Фиг. 27H**). Для ткани опухоли изображен % CD8 клеток от CD3 клеток (**Фиг. 27I**), % CD4 от CD3 клеток (**Фиг. 27J**), % NK клеток от CD3- клеток (**Фиг. 27K**), % FoxP3 от CD4 клеток (**Фиг. 27L**).

[65] На **Фиг. 28А-28I** изображены результаты активации Т-клеток *in vivo* в селезенке, крови и опухоли с использованием конструкции AK235, AK191, AK192,

AK193, AK210, AK189, AK190 или AK211. Активацию Т-клеток измеряли в виде средней интенсивности флуоресценции (MFI) CD25 в CD8+ Т-клетках (**Фиг. 28А; Фиг. 28D; Фиг. 28G**), CD4+ Т-клетках (**Фиг. 28В; Фиг. 28Е; Фиг. 28H**) или Foxp3+ клетках (**Фиг. 28С; Фиг. 28F; Фиг. 28I**) в селезенке, крови и опухоли. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA по сравнению с нерасщепляемой конструкцией AK211.

[66] **На Фиг. 29А-29D** изображены результаты исследований по изучению расщепления *in vivo* иллюстративных маскированных полипептидных конструкций IL-2 AK168 (последовательность расщепляемого пептида: MPYDLYNP; SEQ ID NO: 96) и AK209 (последовательность расщепляемого пептида: VPLSLY; SEQ ID NO: 135). **На Фиг. 29Е** изображены результаты фармакокинетического исследования общей концентрации IgG в плазме крови (мкг/мл) для общих уровней конструкций AK167, AK168 и AK209, а также для уровней нерасщепляемых форм каждой конструкции.

[67] **На Фиг. 30А-30D** изображены результаты исследования *in vivo*, в котором оценивали пропотевание жидкости через сосуды с использованием иллюстративной конструкции AK111 или AK168 маскированного полипептида IL-2, или конструкции AK081 или AK167 немаскированного полипептида IL-2, или контрольного антитела к RSV. **На Фиг. 30А** изображен процент (%) потери массы тела, а на **Фиг. 30В, 30С и 30D** изображена масса тела в граммах печени, легкого и селезенки соответственно для каждого из них.

[68] **На Фиг. 31А и 31В** изображены результаты исследования *in vivo*, в котором оценивали пропотевание жидкости через сосуды, на что указывали путем измерения степени утечки красителя в ткань печени и легких после введения конструкции AK081, AK111, AK167 или AK168 или контрольного антитела к RSV. Степень утечки красителя в печень (**Фиг. 31А**) и легкое (**Фиг. 31В**) измеряли на основании поглощения при 650 нм.

[69] **На Фиг. 32А и 32В** изображены результаты исследования *in vivo*, в котором оценивали пропотевание жидкости через сосуды, на что указывали путем измерения степени периваскулярной инвазии мононуклеарных клеток в ткань печени и легких после введения конструкции AK081, AK111, AK167 или AK168 или контрольного антитела к RSV. Среднее количество мононуклеарных клеток в печени (**Фиг. 32А**) и среднее количество мононуклеарных клеток в легком (**Фиг. 32В**) изображено для каждого из них.

[70] **На Фиг. 33А и 33В** изображены результаты исследования в модели сингенной опухоли, в котором оценивали объем опухоли и массу тела в ходе обработки конструкцией AK032, AK081, AK111, AK167 или AK168 или контрольным антителом к RSV. **На Фиг. 33А** изображены данные в отношении объема опухоли в процессе обработки, а на **Фиг. 33В** изображены данные в отношении процента (%) изменения массы тела в ходе обработки.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[71] В настоящем документе предложены цитокины или их функциональные фрагменты, которые в некоторых вариантах осуществления сконструированы таким

образом, чтобы маскироваться маскирующим фрагментом на одном или нескольких сайтах связывания рецептора цитокина или его функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления цитокины сконструированы таким образом, чтобы их можно было активировать протеазой в целевом сайте, например, в микроокружении опухоли, с помощью включения протеолитически расщепляемого линкера. В некоторых вариантах осуществления протеолитически расщепляемый линкер связывает цитокин с маскирующим фрагментом, связывает цитокин с доменом продления периода полужизни и/или связывает маскирующий фрагмент с доменом продления периода полужизни. Маскирующий фрагмент блокирует, затрудняет, ингибирует (например, снижает) или иным образом предупреждает (например, маскирует) активность или связывание цитокина с его когнатным рецептором или белком. После протеолитического расщепления расщепляемого линкера в целевом сайте цитокин активируется, что делает его способным связываться со своим когнатным рецептором или белком с повышенной аффинностью.

[72] В результате применения маскирующего фрагмента системные побочные эффекты вводимого цитокина могут быть ослаблены путем нарушения связывающей способности цитокина. Например, рекомбинантный IL-2 в высоких дозах (альдеслейкин) был одобрен FDA для лечения метастатической почечно-клеточной карциномы и меланомы, но был ассоциирован с тяжелыми сердечно-сосудистыми, печеночными, легочными, желудочно-кишечными, неврологическими и гематологическими побочными эффектами. Доклинические исследования продемонстрировали, например, что индуцированный IL-2 отек легких вызван взаимодействием между IL-2 и субъединицей IL-2R α (CD25) рецептора IL-2 (IL-2R) на эндотелиальных клетках легких, и что этой опосредованный IL-2 отек легких может быть устранен путем вмешательства в способность IL-2 связывать IL-2R α . См. Krieg et al. (2010) PNAS, 107(26): 11906-11911. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, в которых цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-2, используется маскирующий фрагмент, который блокирует, затрудняет, ингибирует (например, ослабляет) или иным образом предупреждает (например, маскирует) активность или связывание цитокина IL-2 с IL-2R α . Для дополнительного снижения системных эффектов маскированного полипептида IL-2, маскированный полипептид IL-2 может дополнительно содержать маскирующий фрагмент, который блокирует, затрудняет, ингибирует (например, ослабляет) или иным образом предупреждает (например, маскирует) активность или связывание цитокина IL-2 с субъединицами IL-2R β и/или IL-2R γ IL-2R. Подобные стратегии также используются для других цитокинов, препятствуя их способности связывать определенные белки (например субъединицу (субъединицы) рецептора), которые ассоциированы с причинением неблагоприятных системных побочных эффектов. Более того, за счет маскировки цитокина с помощью линкера, который содержит расщепляемый пептид, способность связывания, которая нарушается использованием маскирующего фрагмента, может быть восстановлена путем расщепления

расщепляемого пептида в микроокружении опухоли. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления маскированные цитокины, предложенные в настоящем документе, сконструированы для точного нацеливания фармакологической активности на микроокружение опухоли с использованием одного из отличительных признаков рака, а именно высоких локальных концентраций активной протеазы. Эта особенность микроокружения опухоли используется для преобразования системно инертной молекулы в местно активный цитокин. Активация цитокина в микроокружении опухоли значительно снижает системную токсичность, которая может быть ассоциирована с лекарственными средствами, которые вводятся субъекту в активной форме.

[73] Все публикации, включая патентные документы, научные статьи и базы данных, упомянутые в настоящей заявке, включены посредством ссылки в полном объеме для всех целей в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация была отдельно включена посредством ссылки. Если определение, изложенное в настоящем документе, противоречит или иным образом несовместимо с определением, изложенным в патентах, заявках, опубликованных заявках и других публикациях, которые включены в настоящий документ посредством ссылки, определение, изложенное в настоящем документе, преобладает над определением, которое включено в настоящий документ посредством ссылки.

[74] Заголовки разделов, используемые в настоящем документе, предназначены только для организационных целей и не должны рассматриваться как ограничение описываемого предмета.

Маскированные цитокины

[75] В настоящем документе в некоторых вариантах осуществления предложен маскированный цитокин, содержащий (а) маскирующий фрагмент; и (b) цитокин или его функциональный фрагмент, при этом маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством первого линкера. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин дополнительно содержит домен продления периода полужизни, который связан либо с маскирующим фрагментом, либо с цитокином или его функциональным фрагментом. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан либо с маскирующим фрагментом, либо с полипептидом IL-2 или его функциональным фрагментом посредством второго линкера.

[76] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к C-концу: (а) маскирующий фрагмент; (b) первый линкер; (c) цитокин или его функциональный фрагмент; и (d) домен продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от C к N-концу: (а) маскирующий фрагмент; (b) первый линкер; (c) цитокин или его функциональный фрагмент; и (d) домен продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к C-концу: (а) маскирующий фрагмент; (b) первый линкер; (c) цитокин или его функциональный фрагмент; (d) второй линкер и (e) домен продления периода полужизни.

В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от С к N-концу: (a) маскирующий фрагмент; (b) первый линкер; (c) цитокин или его функциональный фрагмент; (d) второй линкер и (e) домен продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к С-концу: (a) цитокин или его функциональный фрагмент; (b) первый линкер; (c) маскирующий фрагмент; и (d) домен продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от С к N-концу: (a) цитокин или его функциональный фрагмент; (b) первый линкер; (c) маскирующий фрагмент; и (d) домен продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к С-концу: (a) цитокин или его функциональный фрагмент; (b) первый линкер; (c) маскирующий фрагмент; (d) второй линкер; и (e) домен продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от С к N-концу: (a) цитокин или его функциональный фрагмент; (b) первый линкер; (c) маскирующий фрагмент; (d) второй линкер; и (e) домен продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к С-концу: (a) домен продления периода полужизни; (b) первый линкер; (c) маскирующий фрагмент; (d) второй линкер; и (e) цитокин или его функциональный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к С-концу: (a) домен продления периода полужизни; (b) цитокин или его функциональный фрагмент; (c) первый линкер; и (d) маскирующий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 585-597, 602, 610-614, 627-636, 642 и 643. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 585-597, 602, 610-614, 627-636, 642 и 643. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин представляет собой любую из иллюстративных конструкций, описанных в Табл. 4 или Табл. 5, или вариант, созданный с помощью модификации любой из иллюстративных конструкций, описанных в Табл. 4 или Табл. 5, например, путем включения одной или нескольких дополнительных компонентов в структуру конструкции в соответствии с изложенными в настоящем документе идеями.

[77] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе также предложен маскированный цитокин, содержащий (a) первый маскирующий фрагмент; (b) цитокин или его функциональный фрагмент, при этом первый маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством первого линкера; и (c) второй маскирующий фрагмент, при этом второй маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством второго линкера. В

некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин дополнительно содержит домен продления периода полужизни, который связан либо с первым маскирующим фрагментом, либо со вторым маскирующим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан либо с первым маскирующим фрагментом, либо со вторым маскирующим фрагментом посредством третьего линкера.

[78] Также в настоящем документе в некоторых вариантах осуществления предложен маскированный цитокин, содержащий (а) первый маскирующий фрагмент, при этом первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни; (b) цитокин или его функциональный фрагмент, при этом цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни; и (c) второй маскирующий фрагмент, при этом второй маскирующий фрагмент связан с первым маскирующим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера. В некоторых вариантах осуществления второй маскирующий фрагмент связан с первым маскирующим фрагментом посредством второго линкера. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством третьего линкера. В некоторых вариантах осуществления первый линкер содержит расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления второй линкер содержит расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления третий линкер содержит расщепляемый пептид.

[79] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к C-концу: (а) первый маскирующий фрагмент; (b) первый линкер; (c) цитокин или его функциональный фрагмент; (d) второй линкер; (e) второй маскирующий фрагмент; и (f) домен продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от C к N-концу: (а) первый маскирующий фрагмент; (b) первый линкер; (c) цитокин или его функциональный фрагмент; (d) второй линкер; (e) второй маскирующий фрагмент; и (f) домен продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к C-концу: (а) первый маскирующий фрагмент; (b) первый линкер; (c) цитокин или его функциональный фрагмент; (d) второй линкер; (e) второй маскирующий фрагмент; (f) третий линкер; и (g) домен продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от C к N-концу: (а) первый маскирующий фрагмент; (b) первый линкер; (c) цитокин или его функциональный фрагмент; (d) второй линкер; (e) второй маскирующий фрагмент; (f) третий линкер; и (g) домен продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит в направлении от N- к C-концу: (а) домен продления периода полужизни; (b) первый линкер; (c) первый маскирующий фрагмент; (d) второй линкер; (e) цитокин или его функциональный фрагмент; (f) третий линкер; и (g) второй маскирующий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления

маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 567 и 598-601. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 567 и 598-601. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин представляет собой любую из иллюстративных конструкций, описанных в Табл. 6 или Табл. 7, или вариант, созданный с помощью модификации любой из иллюстративных конструкций, описанных в Табл. 6 или Табл. 7, например, путем включения одной или нескольких дополнительных компонентов в структуру конструкции в соответствии с изложенными в настоящем документе идеями.

[80] Также в настоящем документе, в некоторых вариантах осуществления, предложен маскированный цитокин, содержащий (а) первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни; (b) маскирующий фрагмент; и (c) цитокин или его функциональный фрагмент, при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни, цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни, и первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, и/или цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера. В некоторых вариантах осуществления первый домен продления периода полужизни связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством третьего линкера. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит (а) первый домен продления периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и второй домен продления периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156; (b) маскирующий фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261; и (c) цитокин или его функциональный фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 811, первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни, и маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 266 и 267. В некоторых вариантах

осуществления маскированный цитокин содержит (a) первый домен с продленным периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и второй домен продления периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156; (b) маскирующий фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261; и (c) цитокин или его функциональный фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 260, при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 262, первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни, и маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 266 и 267. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 266. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 267. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 266 и 267. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 266. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 267. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 266, и содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 267.

[81] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит (a) первый домен с продленным периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и второй домен продления периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156; (b) маскирующий фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261; и (c)

цитокин или его функциональный фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 807, первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни, и маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 679 и 267. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит (а) первый домен с продленным периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй домен продления периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155; (b) маскирующий фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261; и (c) цитокин или его функциональный фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 807, первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни, и маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 679 и 267.

[82] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит (а) первый домен с продленным периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и второй домен продления периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156; (b) маскирующий фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261; и (c) цитокин или его функциональный фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера, первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни, при этом первый линкер и/или второй линкер содержит расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит (а) первый домен с продленным периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй домен продления периода полужизни, содержащий аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 155; (b) маскирующий фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261; и (c) цитокин или его функциональный фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера, первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни, при этом первый линкер и/или второй линкер содержит расщепляемый пептид.

[83] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит (a) первый домен с продленным периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и второй домен продления периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156; (b) маскирующий фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261; и (c) цитокин или его функциональный фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 812, первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни, и маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 689 и 267. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит (a) первый домен с продленным периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй домен продления периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155; (b) маскирующий фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261; и (c) цитокин или его функциональный фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 812, первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни, и маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 689 и 267.

[84] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит (a)

первый домен с продленным периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и второй домен продления периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156; (b) маскирующий фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261; и (c) цитокин или его функциональный фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера, первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержит модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни, при этом первый линкер и/или второй линкер содержит расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит (a) первый домен с продленным периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй домен продления периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155; (b) маскирующий фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261; и (c) цитокин или его функциональный фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера, первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержит модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни, при этом первый линкер и/или второй линкер содержит расщепляемый пептид.

[85] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 562 и 563. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 562, и содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 563.

[86] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 608 и 603. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность

последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 760, и содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 671.

[187] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 761 и 671. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 761, и содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 671.

[188] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин представляет собой иллюстративную конструкцию маскированного цитокина, как описано в любой из Табл. 8-11, или вариант, созданный с помощью модификации любой из иллюстративных конструкций, описанных в Табл. 8-11, например, путем включения одной или нескольких дополнительных компонентов в структуру конструкции в соответствии с изложенными в настоящем документе идеями.

[189] Также в настоящем документе, в некоторых вариантах осуществления, предложен маскированный цитокин, содержащий (а) первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни; (b) первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент; и (с) цитокин или его функциональный фрагмент, при этом первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни, второй маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом, либо второй маскирующий фрагмент, либо цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни, и первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, и/или либо второй маскирующий фрагмент, либо цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера. В некоторых вариантах осуществления второй маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством третьего линкера. В некоторых вариантах осуществления первый домен продления периода полужизни связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством четвертого линкера. В некоторых вариантах осуществления маскированный

цитокин содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 755 и 616. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 756 и 616. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 757 и 616. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 755, и аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 616. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 756, и аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 616. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 757, и аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 616.

[190] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 265-267, 556-720, 722, 723, 726, 728-761 и 828-830. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит две различные аминокислотные последовательности, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 265-267, 556-720, 722, 723, 726, 728-761 и 828-830. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности, ассоциированный с любой из иллюстративных конструкций, как описано в Табл. 4-11.

[191] Каждый компонент маскированных цитокинов, предложенных в настоящем документе, более подробно обсуждается ниже.

Цитокины

[192] В настоящем документе предложен цитокин или его функциональный фрагмент. Цитокин или его функциональный фрагмент может представлять собой любой

цитокин, любой функциональный фрагмент любого цитокина или любой природный или неприродный вариант любого цитокина. Цитокин представляет собой небольшой полипептид, который играет роль в передаче сигналов в клетках, в частности, в клетках иммунной системы. Примеры цитокинов могут включать хемокины, интерфероны, интерлейкины, лимфокины и факторы некроза опухоли.

[193] Цитокины можно классифицировать множеством способов, например, на основе их трехмерной структуры. Примеры включают класс типа β -трилистника, класс короткоцепочечных четырехспиральных пучков и класс длинноцепочечных четырехспиральных пучков.

[194] Класс β -трилистниковых складок включает цитокины, которые характеризуются тремя единицами $\beta\beta\beta$ -петля- β (всего 12 β -нитей), которые образуют цилиндрическую структуру с крышкой-шпилькой для цилиндра. Примеры цитокинов в классе β -трилистниковых складок включают IL-1 α , IL-1 β , антагонист рецептора IL-1 (IL-1RA), IL-18, IL-33, IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ , антагонист рецептора IL-36 (IL-36RA), IL-37 и IL-38.

[195] Классы короткоцепочечных и длинноцепочечных четырехспиральных пучков характеризуются мономерным спиральным пучком, имеющим четыре амфипатические спирали, ориентированные по уникальной топологии вверх-вверх-вниз-вниз. Класс короткоцепочечных четырехспиральных пучков характеризуется более короткими спиралями, такими как те, которые имеют длину 10-20 аминокислотных остатков, в то время как класс длинноцепочечных четырехспиральных пучков характеризуется более длинными спиралями, такими как те, которые имеют длину 20-30 аминокислотных остатков. Примеры цитокинов из класса короткоцепочечных четырехспиральных пучков включают IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15, IL-21, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) и макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF). Примеры цитокинов в классе длинноцепочечных четырехспиральных пучков включают IL-6, IL-11, IL-12, гормон роста (GH), эритропоэтин (EPO), пролактин (PRL), фактор ингибирования лейкоза (LIF), онкостатин (OSM) и тромбопоэтин (TPO).

[196] В отличие от классов коротко- и длинноцепочечных четырехспиральных пучков, которые являются мономерными, некоторые цитокины являются гомодимерными. Примеры димерных цитокинов включают IL-10 и IFN- γ (гамма).

[197] Некоторые цитокины классифицируются как гетеродимерные. Примеры гетеродимерных цитокинов включают IL-12 и IL-23.

[198] Некоторые цитокины, такие как IL-15, также функционируют, с помощью связывания с рецептором цитокинов, связанным с мембраной, и презентации им.

[199] В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой IL-2 или представляет собой функциональный фрагмент или вариант IL-2. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой IL-15 или представляет собой функциональный фрагмент

или вариант IL-15. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент выбирают из группы, состоящей из IL-2, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, интерферона (IFN)- α (альфа), IFN- β (бета) и IFN- γ (гамма). В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой функциональный фрагмент или вариант IL-2, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, IFN- α (альфа), IFN- β (бета) или IFN- γ (гамма).

[200] В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент выбирают из группы, состоящей из IL-1 α , IL-1 β , антагониста рецептора IL-1 (IL-1RA), IL-18, IL-33, IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ , антагониста рецептора IL-36 (IL-36RA), IL-37 и IL-38.

[201] В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент выбирают из группы, состоящей из IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15, IL-21, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF), IL-6, IL-11, IL-12, гормона роста (GH), эритропоэтина (EPO), пролактина (PRL), фактора ингибирования лейкоза (LIF), онкостатина (OSM) и тромбопоэтина (TPO).

[202] В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент выбирают из группы, состоящей из CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL15, CXCL16, CCL1e, CCL2, CCL3, CCL3L1, CCL4, CCL5, CCL6, CCL7, CCL8, CCL9/10, CCL11, CCL12, CCL13, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, CX3CL1, XCL1 и XCL2. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой функциональный фрагмент или вариант CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL15, CXCL16, CCL1e, CCL2, CCL3, CCL3L1, CCL4, CCL5, CCL6, CCL7, CCL8, CCL9/10, CCL11, CCL12, CCL13, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, CX3CL1, XCL1 или XCL2.

[203] В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент выбирают из группы, состоящей из IFN- α (альфа), IFN- β (бета), IFN- γ (гамма), IFN- ϵ (эпсилон), IFN- κ (каппа), IFN- ω (омега), IFN- τ (тау), IFN- ζ (дзета), IFN- δ (дельта) и IFN- λ (лямбда). В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой функциональный фрагмент или вариант IFN- α (альфа), IFN- β (бета), IFN- γ (гамма), IFN- ϵ (эпсилон), IFN- κ (каппа), IFN- ω (омега), IFN- τ (тау), IFN- ζ (дзета), IFN- δ (дельта) или IFN- λ (лямбда).

[204] В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент выбирают из группы, состоящей из IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28A, IL-28B, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-34, IL-

35, IL-36 и IL-37. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой функциональный фрагмент или вариант IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17A, IL-17C, IL-17D, IL-17F, IL-17A/F, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28A, IL-28B, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-34, IL-35, IL-36 или IL-37.

[205] В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент выбирают из группы, состоящей из гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF), фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), трансформирующего фактора роста бета (TGF- β), IFN- γ (гамма), IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8 и IL-12. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой функциональный фрагмент или вариант гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF), фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), трансформирующего фактора роста бета (TGF- β), IFN- γ (гамма), IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8 или IL-12.

[206] В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент выбирают из группы, состоящей из TNF- α (альфа), TNF- β (бета), TNF- γ (гамма), CD252, CD154, CD178, CD70, CD153, 4-1BB-L, TRAIL, RANKL, APO3L, CD256, CD257, CD258, TL1, AITRL и EDA1. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой функциональный фрагмент или вариант TNF- α (альфа), TNF- β (бета), TNF- γ (гамма), CD252, CD154, CD178, CD70, CD153, 4-1BB-L, TRAIL, RANKL, APO3L, CD256, CD257, CD258, TL1, AITRL и EDA1.

[207] Цитокин или его функциональный фрагмент содержит аминоконец и карбоксиконец. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или карбоксиконцом цитокина или его функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом цитокина или его функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом цитокина или его функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид линкера связан с аминоконцом или карбоксиконцом цитокина или его функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен или C-концевой спейсерный домен линкера связан с аминоконцом или карбоксиконцом цитокина или его функционального фрагмента.

[208] Иллюстративные варианты осуществления цитокина или его функционального фрагмента в форме полипептидов IL-2 или их функциональных фрагментов и полипептидов IL-15 или их функциональных фрагментов подробно представлены ниже.

1. Полипептиды IL-2

[209] В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент. В эукариотических клетках IL-2 синтезируется в качестве предшественника полипептида из 153 аминокислот, который затем превращается в зрелый IL-2 путем удаления аминокислотных остатков 1-20. В результате образуется зрелая форма IL-2, состоящая из 133 аминокислот (аминокислотные остатки 21-153), которая секретируется в зрелой активной форме.

[210] В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент представляет собой любой природный белок интерлейкина-2 (IL-2) или его модифицированный вариант, способный связываться с рецептором интерлейкина-2 (IL-2R) или иным образом проявлять аффинность в отношении его или его компонента (например, цепи IL-2R α). В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент представляет собой зрелую форму IL-2, которая состоит из аминокислотных остатков 21-153 SEQ ID NO: 159. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 160. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-8 и 260. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 260. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-8, 160, 230, 243-251, 260, 775-792 и 813-822. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 230. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 230. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%,

95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3.

[211] В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью по меньшей мере одной аминокислотной модификации аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-8, 160, 230, 243-251, 260, 775-792 и 813-822. Каждая из по меньшей мере одной аминокислотной модификации может представлять собой любую аминокислотную модификацию, такую как замена, вставка или делеция. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9 или по меньшей мере 10 аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 230, 243-251, 260, 775-792 и 813-822. В некоторых вариантах осуществления пептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, которая содержит остаток серина (S), глицина (G) или аланина (A) в аминокислотном остатке 125. В некоторых вариантах осуществления пептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, которая содержит остаток аланина (A) в аминокислотном остатке 3. Например, в некоторых вариантах осуществления пептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения аминокислотной замены T3A в аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-8 и 160. В некоторых вариантах осуществления пептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 243-251 и 260. В некоторых вариантах осуществления пептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 775-792 и 813-822.

[212] В некоторых вариантах осуществления пептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую одну или несколько аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа, которая снижает аффинность пептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R α (CD25). В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что один или несколько аминокислотных остатков 38, 42, 45 и 62 представляют собой аланин (A). В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной

последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотные остатки 38, 42, 45 и 62 представляют собой аланин (A). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотные остатки 38, 42, 45 и 62 представляют собой аланин (A), а аминокислотный остаток 125 представляет собой серин (S), глицин (G) или аланин (A). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотные остатки 38 и 42 представляют собой аланин (A), а аминокислотный остаток 125 представляет собой серин (S), глицин (G) или аланин (A). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью замены аминокислотных остатков R38, F42, Y45 и E62 на аланин в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 160 или 251. В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью замены аминокислотных остатков R38, F42, Y45 и E62 на аланин (A) и замены аминокислотного остатка C125 на серин (S), глицин (G) или аланин (A) в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 160 или 251. В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 42 представляет собой лизин (K). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотные остатки 42 и 45 представляют собой лизин (K), а аминокислотный остаток 125 представляет собой серин (S), глицин (G) или аланин (A). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотные остатки 42 и 45 представляют собой аланин (A), а аминокислотный остаток 72 представляет собой глицин (G). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8,

160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотные остатки 42 и 45 представляют собой аланин (A), аминокислотный остаток 72 представляет собой глицин (G), а аминокислотный остаток 125 представляет собой серин (S), глицин (G) или аланин (A). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 62 представляет собой аргинин (R) или серин (S). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 42 представляет собой глутаминовую кислоту (E). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 43 представляет собой аланин (A). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 45 представляет собой аспарагин (N), аргинин (R) или аланин (A). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 45 представляет собой аланин (A), а аминокислотный остаток 62 представляет собой серин (S). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 42 представляют собой серин (S), а аминокислотный остаток 62 представляет собой серин (S). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 38 представляет собой глицин (G), аминокислотный остаток 45 представляет собой аланин (A), а аминокислотный остаток 62 представляет собой серин (S).

[213] В некоторых вариантах осуществления пептид П-2 или его функциональный

фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: R38A, F42A, F42E, F42K, K43A, Y45A, Y45N, Y45R, E62A, E62R, E62S, L72G, C125S, C125G и C125A.

[214] В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую одну или несколько аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа, которая повышает аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R β (CD122). В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 80 представляет собой фенилаланин (F), аминокислотный остаток 81 представляет собой аспарагиновую кислоту (D), аминокислотный остаток 85 представляет собой валин (V), аминокислотный остаток 86 представляет собой валин (V) или аминокислотный остаток 92 представляет собой фенилаланин (F) или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822, таким образом, что аминокислотный остаток 80 представляет собой фенилаланин (F), аминокислотный остаток 81 представляет собой аспарагиновую кислоту (D), аминокислотный остаток 85 представляет собой валин (V), аминокислотный остаток 86 представляет собой валин (V) или аминокислотный остаток 92 представляет собой фенилаланин (F) или их комбинации, а аминокислотный остаток 125 представляет собой серин (S), глицин (G) или аланин (A). В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 80 представляет собой фенилаланин (F), аминокислотный остаток 81 представляет собой аспарагиновую кислоту (D), аминокислотный остаток 85 представляет собой валин (V), аминокислотный остаток 86 представляет собой валин (V), а аминокислотный остаток 92 представляет собой фенилаланин (F). В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822, таким образом, что аминокислотный остаток 80 представляет собой фенилаланин (F), аминокислотный остаток 81 представляет собой аспарагиновую кислоту (D), аминокислотный остаток 85 представляет собой валин (V), аминокислотный остаток 86

представляет собой валин (V), аминокислотный остаток 92 представляет собой фенилаланин (F), а аминокислотный остаток 125 представляет собой серин (S), глицин (G) или аланин (A). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 18 представляет собой цистеин (C). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 20 представляет собой аланин (A), лейцин (L) или фенилаланин (F). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 16 представляет собой изолейцин В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 29 представляет собой лейцин (L).

[215] В некоторых вариантах осуществления пептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: L18C, D20A, D20L, D20F, H16I, N29L, L80F, R81D, L85V, I86V, I92F, C125S, C125G и C125A.

[216] В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую одну или несколько аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью П-2 дикого типа, которые снижают аффинность пептида П-2 или его функционального фрагмента в отношении П-2R α (CD25), и одну или нескольких аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью П-2 дикого типа, которые повышают аффинность полипептида П-2 или его функционального фрагмента в отношении П-2R β (CD122). В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что один или несколько аминокислотных остатков 38, 42, 45 и 62 представляют собой аланин (A), аминокислотный остаток 42 представляет собой лизин (K), аминокислотный остаток 72 представляет собой глицин (G),

аминокислотный остаток 80 представляет собой фенилаланин (F), аминокислотный остаток 81 представляет собой аспарагиновую кислоту (D), аминокислотный остаток 85 представляет собой валин (V), аминокислотный остаток 86 представляет собой валин (V) или аминокислотный остаток 92 представляет собой фенилаланин (F) или их комбинации. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, которая содержит одну или несколько из следующих аминокислотных замен по сравнению со зрелой формой П-2 дикого типа: D20A, D20L, D20F, H16I, L18C, N29L, R38A, F42A, F42E, F42K, K43A, Y45A, Y45N, Y45R, E62A, E62R, E62S, L72G, L80F, R81D, L85V, I86V, I92F, C125S, C125G и C125A.

[217] В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 38 представляет собой глицин (G), аланин (A), лизин (K) или триптофан (W), аминокислотный остаток 42 представляет собой аланин (A), лизин (K) или изолейцин (I), аминокислотный остаток 45 представляет собой аланин (A) или аспарагин (N), аминокислотный остаток 62 представляет собой аланин (A) или лейцин (L) или аминокислотный остаток 68 представляет собой валин (V) или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 38 представляет собой лизин (K), аминокислотный остаток 42 представляет собой глутамин (Q), аминокислотный остаток 45 представляет собой глутаминовую кислоту (E) или аминокислотный остаток 68 представляет собой валин (V) или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 38 представляет собой аланин (A), аминокислотный остаток 42 представляет собой изолейцин (I), аминокислотный остаток 45 представляет собой аспарагин (N), аминокислотный остаток 62 представляет собой лейцин (L) или аминокислотный остаток 68 представляет собой валин (V) или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 38 представляет собой лизин (K), аминокислотный остаток 42 представляет собой лизин (K), аминокислотный остаток 45 представляет собой аргинин (R), аминокислотный остаток 62

представляет собой лейцин (L) или аминокислотный остаток 68 представляет собой валин (V) или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток 38 представляет собой аланин (A) или лизин (K), аминокислотный остаток 42 представляет собой аланин (A), аминокислотный остаток 45 представляет собой аланин (A) или аминокислотный остаток 62 представляет собой аланин (A) или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822 таким образом, что аминокислотный остаток аминокислотный остаток 42 представляет собой изолейцин (I), аминокислотный остаток 45 представляет собой глутаминовую кислоту (E) или аминокислотный остаток 68 представляет собой валин (V) или их комбинации.

[218] В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения или последующего введения замены C125S, C125G или C125A в любую из аминокислотных последовательностей полипептида П-2 или его функционального фрагмента, описанного в настоящем документе.

[219] В некоторых вариантах осуществления один или несколько аминокислотных остатков удаляют из аминокислотной последовательности полипептида П-2 или его функционального фрагмента с целью удаления сайта O-гликозилирования. В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью делеции первых трех аминокислотных остатков (остатки 1-3) аминокислотной последовательности любого из полипептидов П-2 или их функциональных фрагментов, раскрываемых в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления один или несколько аминокислотных остатков заменяют в аминокислотной последовательности полипептида П-2 или его функционального фрагмента с целью удаления сайта O-гликозилирования. В некоторых вариантах осуществления полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения аминокислотных замен в один или несколько из первых трех аминокислотных остатков (остатки 1-3) аминокислотной последовательности любого из полипептидов П-2 или их функциональных фрагментов, раскрываемых в настоящем документе.

[220] Полипептид П-2 или его функциональный фрагмент содержит аминоконец и карбоксиконец. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида П-2 или его функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида П-2 или его

функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида II-2 или его функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид линкера связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида II-2 или его функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен или C-концевой спейсерный домен линкера связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида II-2 или его функционального фрагмента.

2. Полипептиды II-15

[221] В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид II-15 или его функциональный фрагмент. В эукариотических клетках II-15 синтезируется в качестве предшественника полипептида из 162 аминокислот, который затем превращается в зрелый II-15 путем удаления аминокислотных остатков 1-48. В результате образуется зрелая форма II-15, состоящая из 114 аминокислот (аминокислотные остатки 49-162), которая секретируется в зрелой активной форме (см. SEQ ID NO: 167).

[222] В некоторых вариантах осуществления полипептид II-15 или его функциональный фрагмент представляет собой любой природный белок интерлейкина-15 (II-15) или его модифицированный вариант, способный связываться с рецептором интерлейкина-15 (II-15R) или иным образом проявлять аффинность в отношении его или его компонента (например, цепи II-15R α , II-2R β и/или II-2R γ). В некоторых вариантах осуществления полипептид II-15 или его функциональный фрагмент представляет собой зрелую форму II-15, которая состоит из аминокислотных остатков 49-162 SEQ ID NO: 166. В некоторых вариантах осуществления полипептид II-15 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167. В некоторых вариантах осуществления полипептид II-15 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 166 или 167.

[223] В некоторых вариантах осуществления полипептид II-15 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью по меньшей мере одной аминокислотной модификации аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 167. Каждая из по меньшей мере одной аминокислотной модификации может представлять собой любую аминокислотную модификацию, такую как замена, вставка или делеция. В некоторых вариантах осуществления полипептид II-15 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9 или по меньшей мере 10 аминокислотных замен в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 167.

[224] Полипептид IL-15 или его функциональный фрагмент содержит аминоконцев и карбоксиконцев. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида IL-15 или его функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида IL-15 или его функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида IL-15 или его функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид линкера связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида IL-15 или его функционального фрагмента. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен или C-концевой спейсерный домен линкера связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида IL-15 или его функционального фрагмента.

Маскирующие фрагменты

[225] Маскирующий фрагмент в контексте настоящего документа относится к фрагменту, способному связываться с цитокином или его функциональным фрагментом или иным образом проявлять аффинность в отношении его таким образом, что в некоторых вариантах осуществления связывание снижает аффинность цитокина или его функционального фрагмента в отношении его когнатного рецептора или белка. Например, маскирующий фрагмент для полипептида IL-2 или его функционального фрагмента способен связываться с полипептидом IL-2 или его функциональным фрагментом или иным образом проявлять аффинность в отношении его таким образом, что в некоторых вариантах осуществления связывание снижает аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении его когнатного рецептора или белка (например IL-2R или его компонента, такого как цепи IL-2R α и/или IL-2R β). При связывании с цитокином или его функциональным фрагментом маскирующий фрагмент блокирует, затрудняет, ингибирует (например снижает) или иным образом предупреждает (например маскирует) активность или связывание цитокина или его функционального фрагмента с его когнатным рецептором или белком. В некоторых вариантах осуществления, которые включают первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент, присутствие одного из маскирующих фрагментов (например первого маскирующего фрагмента) блокирует, затрудняет, ингибирует (например ослабляет) или иным образом предупреждает (например маскирует) активность или связывание цитокина или его функционального фрагмента с его когнатным рецептором или белком, в то время как другой маскирующий фрагмент (например второй маскирующий фрагмент) может, в некоторых вариантах осуществления, оставаться связанным с цитокином или его функциональным фрагментом после расщепления первого маскирующего фрагмента и по-прежнему обеспечивает или, возможно, даже способствует связыванию цитокина или его функционального фрагмента с его когнатным рецептором или белком в сайте, в котором был связан первый маскирующий фрагмент. См., например, Фиг. 7В. Способы определения степени связывания белка (например цитокина) с когнатным белком

(например рецептором цитокина) хорошо известны в данной области техники.

[226] Маскированные цитокины, предложенные в настоящем документе, содержат маскирующий фрагмент. Маскирующий фрагмент содержит аминоконец и карбоксиконец. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит один маскирующий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит более одного маскирующего фрагмента, каждый из которых может представлять собой любой из маскирующих фрагментов, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент. Следует понимать, например, что ссылка на «маскирующий фрагмент» или «данный маскирующий фрагмент» может относиться к маскирующему фрагменту в маскированном цитокине, содержащем один маскирующий фрагмент, или может относиться к первому маскирующему фрагменту в маскированном цитокине, содержащем первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент, или он может относиться ко второму маскирующему фрагменту в маскированном цитокине, содержащем первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент, или он может относиться к первому маскирующему фрагменту и второму маскирующему фрагменту в маскированном цитокине, содержащем первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент.

[227] В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством первого линкера. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит домен продления периода полужизни, который связан с маскирующим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит домен продления периода полужизни, который связан с маскирующим фрагментом посредством второго линкера. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом и связан с доменом продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент связан с аминоконцом маскирующего пептида и доменом продления периода полужизни связан с карбоксиконцом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент связан с карбоксиконцом маскирующего пептида и доменом продления периода полужизни связан с аминоконцом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или карбоксиконцом маскирующего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления второй линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом маскирующего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с первым линкером и связан со вторым линкером. В некоторых вариантах осуществления первый линкер связан с аминоконцом маскирующего пептида и второй линкер связан с карбоксиконцом маскирующего пептида. В некоторых

вариантах осуществления первый линкер связан с карбоксиконцом маскирующего пептида и второй линкер связан с аминоконцом маскирующего пептида.

[228] В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент, первый маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом, и второй маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент, первый маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством первого линкера, и второй маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством второго линкера. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит домен продления периода полужизни, который связан либо с первым маскирующим фрагментом, либо со вторым маскирующим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит домен продления периода полужизни, который связан либо с первым маскирующим фрагментом, либо со вторым маскирующим фрагментом посредством третьего линкера. В некоторых вариантах осуществления первый линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом первого маскирующего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления второй линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом второго маскирующего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или карбоксиконцом первого маскирующего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или карбоксиконцом второго маскирующего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления третий линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом первого маскирующего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления третий линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом второго маскирующего фрагмента.

[229] В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент, первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни, второй маскирующий фрагмент связан с первым маскирующим фрагментом, и цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент, первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, второй маскирующий фрагмент связан с первым маскирующим фрагментом посредством второго линкера, и цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством третьего линкера. В некоторых вариантах осуществления первый линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом первого домена продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления второй линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом второго маскирующего фрагмента. В некоторых вариантах

маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент, первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни и второй маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом. В некоторых вариантах осуществления второй маскирующий фрагмент дополнительно связан со вторым доменом продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, и/или либо второй маскирующий фрагмент, либо цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера. В некоторых вариантах осуществления второй маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством третьего линкера.

[233] В некоторых вариантах осуществления первый домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или карбоксиконцом первого маскирующего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом второго маскирующего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления первый линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом первого маскирующего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления второй линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом второго маскирующего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления третий линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом второго маскирующего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления второй линкер связан с аминоконцом второго маскирующего фрагмента и третий линкер связан с карбоксиконцом второго маскирующего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления второй линкер связан с карбоксиконцом второго маскирующего фрагмента и третий линкер связан с аминоконцом второго маскирующего фрагмента.

[234] В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 10, 161-165, 187-218, 221-229, 231 и 261. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 10, 161-165, 187-218, 221-229, 231 и 261. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 261.

[235] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит

и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, образованную с помощью одной или нескольких аминокислотных замен SEQ ID NO: 10 или 261: C122S, C168S, R42A, K71A, T73A, T74A, V75A, H133A, Y134A, R137D, Q162W, E170A и Q188A. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность, которая образована с помощью одной или нескольких аминокислотных замен, содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 826.

[240] В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229, 232-234, 261 и 823-825. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229, 232-234, 261 и 823-825. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 261. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 826 или 827, или содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 826 или 827.

[241] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент. В некоторых

10, 161-165, 219-229, 261, 826 и 827, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825. В некоторых вариантах осуществления второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229, 261, 826 и 827, и первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825. В некоторых вариантах осуществления первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 826 или 827. В некоторых вариантах осуществления второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825, и первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 826 или 827.

[243] В некоторых вариантах осуществления первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 221-226 и 261. В некоторых вариантах осуществления первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 221-226 и 261, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825. В некоторых вариантах осуществления первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 221-226 и 261, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825. В некоторых вариантах

аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 219 и 220, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825. В некоторых вариантах осуществления первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 219 и 220, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825. В некоторых вариантах осуществления второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 219 и 220, и первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825.

[246] В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825: R24A, R26A, K34A, S40A, L42A и P67A. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825, и дополнительно модифицированную с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825: R24A, R26A, K34A, S40A, L42A и P67A.

[247] В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит IL-2R α (также называемый CD25) или его фрагмент, часть или вариант, который сохраняет или иным образом демонстрирует аффинность в отношении IL-2. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит IL-2R α (также называемый CD25) или

его фрагмент, часть или вариант и содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или 231. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит IL-2R β (также называемый CD122) или его фрагмент, часть или вариант, который сохраняет или иным образом демонстрирует аффинность в отношении IL-2 и/или IL-15. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит IL-2R β (также называемый CD122) или его фрагмент, часть или вариант, и содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 221-226, 261, 826 и 827. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит IL-2R γ (также называемый CD132) или его фрагмент, часть или вариант, который сохраняет или иным образом демонстрирует аффинность в отношении IL-2 и/или IL-15. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит IL-15R α (также называемый CD215) или его фрагмент, часть или вариант, который сохраняет или иным образом демонстрирует аффинность в отношении IL-15. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит IL-15R α (также называемый CD215) или его фрагмент, часть или вариант, и содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит антигенсвязывающий домен антитела или его фрагмента. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит антигенсвязывающий домен антитела к IL-2 или его фрагмента. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент содержит антигенсвязывающий домен антитела к IL-15 или его фрагмента.

[248] В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент, первый маскирующий фрагмент содержит IL-2R α или его фрагмент, часть или вариант, который сохраняет или иным образом демонстрирует аффинность в отношении IL-2, и второй маскирующий фрагмент содержит IL-2R β или его фрагмент, часть или вариант, который сохраняет или иным образом демонстрирует аффинность в отношении IL-2. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент, первый маскирующий фрагмент содержит IL-2R β или его фрагмент, часть или вариант, который сохраняет или иным образом демонстрирует аффинность в отношении IL-2, и второй маскирующий фрагмент содержит IL-2R α или его фрагмент, часть или вариант, который сохраняет или иным образом демонстрирует аффинность в отношении IL-2. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент, первый маскирующий фрагмент содержит IL-2R α или его фрагмент, часть или вариант, который сохраняет или иным образом демонстрирует аффинность в отношении IL-2, и второй маскирующий фрагмент содержит IL-2R γ или его фрагмент, часть или вариант, который сохраняет или иным образом демонстрирует аффинность в отношении IL-2. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент, первый маскирующий фрагмент содержит IL-2R γ или его фрагмент, часть или вариант, который сохраняет или

маскирующий фрагмент, первый маскирующий фрагмент содержит антигенсвязывающий домен антитела к IL-15 или его фрагмента, и второй маскирующий фрагмент содержит IL-15R α или его фрагмент, часть или вариант, который сохраняет или иным образом демонстрирует аффинность в отношении IL-15.

Линкеры

[250] Линкер в контексте настоящего документа относится к пептиду из двух или более аминокислот, который используется для связывания двух компонентов вместе, таких как двух компонентов любого из маскированных цитокинов, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминоконцевой спейсерный домен (N-концевой спейсерный домен) и/или карбоксиконцевой спейсерный домен (C-концевой спейсерный домен). В некоторых вариантах осуществления линкер содержит N-концевой спейсерный домен, расщепляемый пептид и/или C-концевой спейсерный домен. В некоторых вариантах осуществления линкер состоит из N-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления линкер состоит из C-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления линкер состоит из N-концевого спейсерного домена и C-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления линкер состоит из расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления линкер состоит из N-концевого спейсерного домена, расщепляемого пептида и/или C-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления линкер состоит из N-концевого спейсерного домена и расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления линкер состоит из расщепляемого пептида и C-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления линкер состоит из расщепляемого пептида.

[251] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит линкер. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит один линкер. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит более одного линкера, каждый из которых может представлять собой любой из линкеров, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит первый линкер и второй линкер. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит первый линкер, второй линкер и третий линкер. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит первый линкер, второй линкер, третий линкер и четвертый линкер. Например, ссылка на «линкер» или «данный линкер» может относиться к линкеру в маскированном цитокине, содержащем один линкер, или может относиться к первому линкеру в маскированном цитокине, содержащем первый линкер и второй линкер, или он может относиться ко второму линкеру в маскированном цитокине, содержащем первый линкер и второй линкер, или он может относиться к первому линкеру и второму линкеру в маскированном цитокине, содержащем первый линкер и второй линкер, или может относиться к первому линкеру, второму линкеру и/или третьему линкеру в маскированном

цитокине, содержащем первый линкер, второй линкер и третий линкер, или он может относиться к первому линкеру, второму линкеру, третьему линкеру и/или четвертому линкеру в маскированном цитокине, содержащем первый линкер, второй линкер, третий линкер и четвертый линкер.

[252] Следует понимать, что каждый из следующих терминов считается «линкером», как описано в настоящем документе: линкер, первый линкер, второй линкер, третий линкер и четвертый линкер, а также любой другой пронумерованный линкер (например, пятый линкер, шестой линкер и т.д.). Таким образом, в некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин может содержать линкер, первый линкер, второй линкер, третий линкер и/или четвертый линкер, каждый из которых считается «линкером», как описано в настоящем документе, и любой из линкеров, описанных в настоящем документе, может представлять собой линкер, первый линкер, второй линкер, третий линкер и/или четвертый линкер, как описано в настоящем документе.

[253] Также следует понимать, что два компонента, «связанные» вместе, включают варианты осуществления, в которых два компонента непосредственно связаны вместе, а также варианты осуществления, в которых два компонента связаны вместе посредством линкера, как описано в настоящем документе. Например, «домен продления периода полужизни, который связан с маскирующим фрагментом» интерпретируется как означающий либо то, что аминокислотная последовательность домена продления периода полужизни связана непосредственно с аминокислотной последовательностью маскирующего фрагмента, либо то, что аминокислотная последовательность домена продления периода полужизни связана с аминокислотной последовательностью маскирующего фрагмента посредством линкера, такого как любой из линкеров, описанных в настоящем документе.

[254] Линкер содержит аминоконец и карбоксиконец. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом линкера. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом линкера. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент связан с аминоконцом линкера и маскирующий фрагмент связан с карбоксиконцом линкера. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент связан с карбоксиконцом линкера и маскирующий фрагмент связан с аминоконцом линкера. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или карбоксиконцом линкера. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан с аминоконцом линкера и маскирующий фрагмент связан с карбоксиконцом линкера. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан с карбоксиконцом линкера и маскирующий фрагмент связан с аминоконцом линкера. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан с аминоконцом линкера и цитокин или его функциональный фрагмент связан с карбоксиконцом линкера. В некоторых вариантах осуществления домен

продления периода полужизни связан с карбоксиконцом первого линкера, первый маскирующий фрагмент связан с аминоконцом второго линкера и второй маскирующий фрагмент связан с карбоксиконцом второго линкера, и цитокин или его функциональный фрагмент связан с аминоконцом третьего линкера и второй домен продления периода полужизни связан с карбоксиконцом третьего линкера.

[262] В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни связан со вторым доменом продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством линкера.

[263] В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-153, 235-242, 264, 268-317, 323-338, 340-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535, 538-555, 727, 794 и 799. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-19, 262, 263, 318-320, 348-354, 416-419, 492, 493, 502, 503, 536, 537, 668, 691, 724, 725, 762-771, 797, 798 и 800-812. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 262. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268 и 269. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-33. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 34-44. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 45-95. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 235. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 268. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 269. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 263, 318-322, 339, 348-355, 416-419, 492, 493, 502, 503, 536, 537, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794, 795 и 797-812.

[264] В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 794, 795 797-812. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

[265] В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-19, 262, 263, 318-320, 348-354, 416-419, 492, 493, 502, 503, 536, 537, 668, 691, 724, 725, 762-771, 797, 798 и 800-812. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-33. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 34-44. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 235. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 262. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%,

осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 800-812.

[266] Расщепляемые пептиды и спейсерные домены некоторых вариантов осуществления линкера описаны более подробно ниже.

1. Расщепляемые пептиды

[267] В некоторых вариантах осуществления линкер содержит расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления, имеющих более одного линкера, который содержит расщепляемый пептид, расщепляемый пептид может называться первым расщепляемым пептидом, вторым расщепляемым пептидом или третьим расщепляемым пептидом, каждый из которых считается «расщепляемым пептидом» и может представлять собой любой из расщепляемых пептидов, описанных в настоящем документе. Например, ссылка на «расщепляемый пептид» или «данный расщепляемый пептид» может относиться к расщепляемому пептиду в маскированном цитокине, содержащем один расщепляемый пептид, или может относиться к первому расщепляемому пептиду в маскированном цитокине, содержащем первый расщепляемый пептид и второй расщепляемый пептид, или он может относиться ко второму расщепляемому пептиду в маскированном цитокине, содержащем первый расщепляемый пептид и второй расщепляемый пептид, или он может относиться к первому расщепляемому пептиду и второму расщепляемому пептиду в маскированном цитокине, содержащем первый расщепляемый пептид и второй расщепляемый пептид, или он может относиться к первому расщепляемому пептиду, второму расщепляемому пептиду и/или третьему расщепляемому пептиду в маскированном цитокине, содержащем первый расщепляемый пептид, второй расщепляемый пептид и третий расщепляемый пептид. Возможно, что в некоторых вариантах осуществления может присутствовать более трех расщепляемых пептидов в соответствии с изложенными в настоящем документе идеями.

[268] Расщепляемый пептид представляет собой полипептид, который содержит сайт расщепления, такой как сайт расщепления протеазой. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит более одного сайта расщепления. Термин «сайт расщепления» в контексте настоящего документа относится к узнаваемому сайту для расщепления части расщепляемого пептида, встречающегося в любом из линкеров, которые содержат расщепляемый пептид, описанный в настоящем документе. Таким образом, сайт расщепления может встречаться в последовательности расщепляемого пептида, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления сайт расщепления представляет собой аминокислотную последовательность, которая распознается и расщепляется расщепляющим агентом. Примеры расщепляющих агентов включают белки, ферменты, ДНКзимы, РНКзимы, металлы, кислоты и основания.

[269] В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит сайт

расщепления протеазой. В некоторых вариантах осуществления сайт расщепления протеазой представляет собой опухолеассоциированный сайт расщепления протеазой. «Опухалеассоциированный сайт расщепления протеазой» в контексте настоящего документа, представляет собой аминокислотную последовательность, распознаваемую протеазой, экспрессия которой является специфичной или повышенной для опухолевой клетки или среды опухолевых клеток. В некоторых вариантах осуществления сайт расщепления протеазой представляет собой сайт расщепления, распознаваемый одним или несколькими ферментами, выбранными из группы, состоящей из: ABHD12, ADAM12, ABHD12B, ABHD13, ABHD17A, ADAM19, ADAM20, ADAM21, ADAM28, ADAM30, ADAM33, ADAM8, ABHD17A, ADAMDEC1, ADAMTS1, ADAMTS10, ADAMTS12, ADAMTS13, ADAMTS14, ADAMTS15, ADAMTS16, ADAMTS17, ADAMTS18, ADAMTS19, ADAMTS2, ADAMTS20, ADAMTS3, ADAMTS4, ABHD17B, ADAMTS5, ADAMTS6, ADAMTS7, ADAMTS8, ADAMTS9, ADAMTSL1, ADAMTSL2, ADAMTSL3, ABHD17C, ADAMTSL5, ASTL, BMP1, CELA1, CELA2A, CELA2B, CELA3A, CELA3B, ADAM10, ADAM15, ADAM17, ADAM9, ADAMTS4, CTSE, CTSF, ADAMTSL4, CMA1, CTRB1, CTRC, CTSO, CTRL, CTSA, CTSW, CTSB, CTSC, CTSD, ESP1, CTSG, CTSN, GZMA, GZMB, GZMH, CTSK, GZMM, CTSL, CTSS, CTSV, CTSZ, HTRA4, KLK10, KLK11, KLK13, KLK14, KLK2, KLK4, DPP4, KLK6, KLK7, KLKB1, ECE1, ECE2, ECEL1, MASP2, MEP1A, MEP1B, ELANE, FAP, GZMA, MMP11, GZMK, HGFAC, HPN, HTRA1, MMP11, MMP16, MMP17, MMP19, HTRA2, MMP20, MMP21, HTRA3, HTRA4, KEL, MMP23B, MMP24, MMP25, MMP26, MMP27, MMP28, KLK5, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, LGMN, LNPEP, MASP1, PAPP1, PAPP2, PCSK1, NAPSA, PCSK5, PCSK6, MME, MMP1, MMP10, PLAT, PLAU, PLG, PRSS1, PRSS12, PRSS2, PRSS21, PRSS3, PRSS33, PRSS4, PRSS55, PRSS57, MMP12, PRSS8, PRSS9, PRTN3, MMP13, MMP14, ST14, TMPRSS10, TMPRSS11A, TMPRSS11D, TMPRSS11E, TMPRSS11F, TMPRSS12, TMPRSS13, MMP15, TMPRSS15, MMP2, TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4, TMPRSS5, TMPRSS6, TMPRSS7, TMPRSS9, NRDC, OVCH1, PAMR1, PCSK3, PHEX, TINAG, TPSAB1, TPSD1 и TPSG1. В некоторых вариантах осуществления сайт расщепления протеазой представляет собой сайт расщепления, распознаваемый одним или несколькими ферментами, выбранными из группы, состоящей из: ADAM17, HTRA1, PRSS1, FAP, GZMK, NAPSA, MMP1, MMP2, MMP9, MMP10, MMP7, MMP12, MMP28, ADAMTS9, HGFAC и HTRA3.

[270] В вариантах осуществления сайт расщепления протеазой представляет собой сайт расщепления матриксной металлопротеазой (MMP), сайт расщепления металлопротеазами, содержащими дезинтегрин и металлопротеазный домен (ADAM), сайт расщепления протеазой простат-специфического антигена (PSA), сайт расщепления протеазой активатора плазминогена урокиназного типа (uPA), сайт расщепления сериновой протеазой 1 мембранного типа (MT-SP1), сайт расщепления протеазой матриптазой (ST14) или сайт расщепления протеазой легумаином. В вариантах осуществления сайт расщепления матриксной металлопротеазой (MMP) представляет

собой сайт расщепления MMP9, сайт расщепления MMP13 или сайт расщепления MMP2. В вариантах осуществления сайт расщепления металлопротеазы, содержащей дезинтегрин и металлопротеазный домен (ADAM), представляет собой сайт расщепления металлопротеазы ADAM9, сайт расщепления металлопротеазы ADAM10 или сайт расщепления металлопротеазы ADAM17. Сайты расщепления протеазой могут быть обозначены конкретной аминокислотной последовательностью.

[271] В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или несколькими ферментами, выбранными из группы, состоящей из: ABHD12, ADAM12, ABHD12B, ABHD13, ABHD17A, ADAM19, ADAM20, ADAM21, ADAM28, ADAM30, ADAM33, ADAM8, ABHD17A, ADAMDEC1, ADAMTS1, ADAMTS10, ADAMTS12, ADAMTS13, ADAMTS14, ADAMTS15, ADAMTS16, ADAMTS17, ADAMTS18, ADAMTS19, ADAMTS2, ADAMTS20, ADAMTS3, ADAMTS4, ABHD17B, ADAMTS5, ADAMTS6, ADAMTS7, ADAMTS8, ADAMTS9, ADAMTSL1, ADAMTSL2, ADAMTSL3, ABHD17C, ADAMTSL5, ASTL, BMP1, CELA1, CELA2A, CELA2B, CELA3A, CELA3B, ADAM10, ADAM15, ADAM17, ADAM9, ADAMTS4, CTSE, CTSF, ADAMTSL4, CMA1, CTRB1, CTRC, CTSO, CTRI, CTSA, CTSW, CTSB, CTSC, CTSD, ESP1, CTSG, CTSH, GZMA, GZMB, GZMH, CTSK, GZMM, CTSL, CTSS, CTSV, CTSZ, HTRA4, KLK10, KLK11, KLK13, KLK14, KLK2, KLK4, DPP4, KLK6, KLK7, KLKB1, ECE1, ECE2, ECEL1, MASP2, MEP1A, MEP1B, ELANE, FAP, GZMA, MMP11, GZMK, HGFAC, HPN, HTRA1, MMP11, MMP16, MMP17, MMP19, HTRA2, MMP20, MMP21, HTRA3, HTRA4, KEL, MMP23B, MMP24, MMP25, MMP26, MMP27, MMP28, KLK5, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, LGMN, LNPEP, MASP1, PAPPА, PAPPА2, PCSK1, NAPSA, PCSK5, PCSK6, MME, MMP1, MMP10, PLAT, PLAU, PLG, PRSS1, PRSS12, PRSS2, PRSS21, PRSS3, PRSS33, PRSS4, PRSS55, PRSS57, MMP12, PRSS8, PRSS9, PRTN3, MMP13, MMP14, ST14, TMPRSS10, TMPRSS11A, TMPRSS11D, TMPRSS11E, TMPRSS11F, TMPRSS12, TMPRSS13, MMP15, TMPRSS15, MMP2, TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4, TMPRSS5, TMPRSS6, TMPRSS7, TMPRSS9, NRDC, OVCH1, PAMR1, PCSK3, PHEX, TINAG, TPSAB1, TPSD1 и TPSG1. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или несколькими ферментами, выбранными из группы, состоящей из: ADAM17, HTRA1, PRSS1, FAP, GZMK, NAPSA, MMP1, MMP2, MMP9, MMP10, MMP7, MMP12, MMP28, ADAMTS9, HGFAC и HTRA3. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или несколькими ферментами, выбранными из группы, состоящей из uPA и MMP14. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или несколькими ферментами, выбранными из группы, состоящей из матриптазы и MMP14. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или несколькими ферментами, выбранными из группы, состоящей из легумаина и MMP14. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или несколькими ферментами, выбранными из группы, состоящей из матриптазы и uPA. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или несколькими

ферментами, выбранными из группы, состоящей из uPA и легумаина. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или несколькими ферментами, выбранными из группы, состоящей из матриптазы и легумаина. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или несколькими ферментами, выбранными из группы, состоящей из uPA, матриптазы и MMP14. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или несколькими ферментами, выбранными из группы, состоящей из uPA, легумаина и MMP14. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или несколькими ферментами, выбранными из группы, состоящей из матриптазы, легумаина и MMP14. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или несколькими ферментами, выбранными из группы, состоящей из матриптазы, легумаина и uPA.

[272] В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид представляет собой субстрат для протеазы, которая локализована в области или ткани, экспрессирующей цитокиновый рецептор. Цитокиновый рецептор может представлять собой любой цитокиновый рецептор. В некоторых вариантах осуществления цитокиновый рецептор выбирают из группы, состоящей из CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6, CXCR7, CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, CCR11, XCR1, CX3CR1, IL-1RAP, IL-1RAPL1, IL-1RAPL2, IL-1RL1, IL-1RL2, IL-1R1, IL-1R2, IL-2R, IL-2R α , IL-2R β , IL-2R γ , IL-3R α , IL-4R, IL-5R α , IL-6R, IL-6ST, IL-7R, IL-9R, IL-10R α , IL-10R β , IL-11R α , IL-12R β 1, IL-12R β 2, IL-13R α 1, IL-13R α 2, IL-15R α , IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-17RD, IL-17RE, IL-18RAP, IL-18R1, IL-20R α , IL-20R β , IL-21R, IL-22R α 1, IL-22R α 2, IL-23R, IL-27R α , IL-28R α , IL-31RA, IFNAR1, IFNAR2, IFNGR1, IFNGR2, IFNLR1, GMR α (CD116), CD131, GHR, PRLR, EPOR, LIFR (CD118), OSMR β , TPO-R (CD110), CSF-1R, EDAR, TNFRSF1A, TNFRSF1B, LTBR, TNFRSF4, CD40, FAS, TNFRSF6B, CD27, TNFRSF8, TNFRSF9, TNFRSF10A, TNFRSF10B, TNFRSF10C, TNFRSF10D, TNFRSF11A, TNFRSF11B, TNFRSF12A, TNFRSF13B, TNFRSF13C, TNFRSF14, NGFR, TNFRSF17, TNFRSF18, TNFRSF19, RELT, TNFRSF21, TNFRSF25 и EDA2R.

[273] В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид представляет собой 5-мер (т.е., пептид длиной 5 аминокислот), 6-мер (т.е., пептид длиной 6 аминокислот), 7-мер (т.е., пептид длиной 7 аминокислот), 8-мер (т.е., пептид длиной 8 аминокислот), 9-мер (т.е., пептид длиной 9 аминокислот), 10-мер (т.е., пептид длиной 10 аминокислот), 11-мер (т.е., пептид длиной 11 аминокислот), 12-мер (т.е., пептид длиной 12 аминокислот), 13-мер (т.е., пептид длиной 13 аминокислот), 14-мер (т.е., пептид длиной 14 аминокислот), 15-мер (т.е., пептид длиной 15 аминокислот), 16-мер (т.е., пептид длиной 16 аминокислот), 17-мер (т.е., пептид длиной 17 аминокислот) или 18-мер (т.е., пептид длиной 18 аминокислот). Иллюстративные расщепляемые пептидные последовательности представлены в Табл. 1.

Таблица 1. Иллюстративные расщепляемые пептидные последовательности

Иллюстративные расщепляемые пептидные последовательности	
MPYDLYHP (SEQ ID NO: 96)	GGIGQLTSVLMAAP (SEQ ID NO: 129)
GGIGQLTA (SEQ ID NO: 97)	DSGGFMLTLVLPVLP (SEQ ID NO: 130)
DLGRFQTF (SEQ ID NO: 98)	TSEFVFAPDLGRFQTF (SEQ ID NO: 131)
DSGGFMLT (SEQ ID NO: 99)	TSTSGRSANPR (SEQ ID NO: 132)
TSVLMAAP (SEQ ID NO: 100)	TSTSGRSANPG (SEQ ID NO: 133)
TSEFVFAPDQ (SEQ ID NO: 101)	TSTSGRSANPH (SEQ ID NO: 134)
KLVLPLVP (SEQ ID NO: 102)	VPLSLY (SEQ ID NO: 135)
KPILFFRL (SEQ ID NO: 103)	TSASGASASAA (SEQ ID NO: 136)
ANQLKG (SEQ ID NO: 104)	PSSPGGGSSP (SEQ ID NO: 137)
QSQLKE (SEQ ID NO: 105)	ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 138)
HEQLTV (SEQ ID NO: 106)	ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 139)
PANLVAPDP (SEQ ID NO: 107)	ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 140)
PAPGVYPGP (SEQ ID NO: 108)	ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 141)
APAGLIVPYN (SEQ ID NO: 109)	ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 142)
PQALVA (SEQ ID NO: 110)	ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 143)
VGNLNF (SEQ ID NO: 111)	ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 144)
VANLLYE (SEQ ID NO: 112)	ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 145)
VYNLMD (SEQ ID NO: 113)	AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 146)
TFNIKQ (SEQ ID NO: 114)	AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 147)
DLWKLLP (SEQ ID NO: 115)	AVGLLAPPGGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 148)
PGSTKRA (SEQ ID NO: 116)	AVGLLAPPGGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 149)
QQYRALKS (SEQ ID NO: 117)	AVGLLAPPGGLSGRSDTH (SEQ ID NO: 150)
YVPRAVL (SEQ ID NO: 118)	AVGLLAPPGGLSGRSANP (SEQ ID NO: 151)
GVNKWPT (SEQ ID NO: 119)	AVGLLAPPGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 152)
LAQAVRSS (SEQ ID NO: 120)	AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 153)

RAAAVKSP (SEQ ID NO: 121)	SGRSA (SEQ ID NO: 236)
DLLAVVAAS (SEQ ID NO: 122)	SGRSANA (SEQ ID NO: 237)
VQTVTWD (SEQ ID NO: 123)	SGRNAQ (SEQ ID NO: 238)
AIPMSIPP (SEQ ID NO: 124)	SGRNAQVR (SEQ ID NO: 239)
GYEVHHQK (SEQ ID NO: 125)	SGRSDN (SEQ ID NO: 240)
VHHQKLVF (SEQ ID NO: 126)	SGRSDNPN (SEQ ID NO: 241)
IRRVSYSF (SEQ ID NO: 127)	GSGKSA (SEQ ID NO: 242)
MPYDLYHPILFFRL (SEQ ID NO: 128)	DSGGFMLTS (SEQ ID NO: 264)
ISSGLLGGLSGRSDQP (SEQ ID NO: 270)	IYDQKT (SEQ ID NO: 342)
ISSGLLSGRSDQG (SEQ ID NO: 271)	AHNYKT (SEQ ID NO: 343)
ISSGLLSGRSDQA (SEQ ID NO: 272)	MMDQAN (SEQ ID NO: 344)
ISSGLLSGRSDSP (SEQ ID NO: 273)	MLGEFVSE (SEQ ID NO: 345)
ISSGLLSGRSDTP (SEQ ID NO: 274)	GLVALRGA (SEQ ID NO: 346)
ISSGLLSGRSDMP (SEQ ID NO: 275)	KEHKYKAE (SEQ ID NO: 347)
ISSGLLSGRSD (SEQ ID NO: 276)	RQARVVG (SEQ ID NO: 356)
ISSGLLSGRSDQP (SEQ ID NO: 277)	LGGSGRSNAQVRLE (SEQ ID NO: 357)
ISSGLLGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 278)	LGGSGRKASLSLE (SEQ ID NO: 358)
ISSGLLSSGGLSGRSDQP (SEQ ID NO: 279)	SGRIGFLRTA (SEQ ID NO: 359)
ISSGLLSSGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 280)	SGAIGFLRTA (SEQ ID NO: 360)
ISSGLLSGRS (SEQ ID NO: 281)	RPARSGRSAGGSVA (SEQ ID NO: 361)
ISSGLLSGRSESP (SEQ ID NO: 282)	VTGRGDSPASS (SEQ ID NO: 362)
ISSGLLSGRSEQP (SEQ ID NO: 283)	PRFKIIGG (SEQ ID NO: 363)
ISSGLLSGRSEQH (SEQ ID NO: 284)	LSGRIGFLRTA (SEQ ID NO: 364)
LSSGLLSGRSDQP (SEQ ID NO: 285)	LSGRSNAMPYDLYHP (SEQ ID NO: 365)
LSSGLLGGLSGRSDQP (SEQ ID NO: 286)	LSGRSNAGGIGQLTA (SEQ ID NO: 366)
LSSGLLSGRSDQG (SEQ ID NO: 287)	LSGRSNAVPLSLY (SEQ ID NO: 367)
LSSGLLSGRSDQA (SEQ ID NO: 288)	LSGRSNADSGGFMLT (SEQ ID NO: 368)
LSSGLLSGRSDSP (SEQ ID NO: 289)	LSGRSNAHEQLTA (SEQ ID NO: 369)
LSSGLLSGRSDTP (SEQ ID NO: 290)	LSGRSNARAAVKSP (SEQ ID NO: 370)
LSSGLLSGRSDMP (SEQ ID NO: 291)	LSGRSNATSVLMAAP (SEQ ID NO: 371)
LSSGLLSGRSD (SEQ ID NO: 292)	VPLSLYLSGRSNA (SEQ ID NO: 372)
GKQLRVVNEYSSMDNMLLG (SEQ ID	DSGGFMLTSLGRSNA (SEQ ID NO: 373)

NO: 293)	
LSSGLLGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 294)	GGIGQLTALSGRSNA (SEQ ID NO: 374)
LSSGLLSSGGLSGRSDQP (SEQ ID NO: 295)	MPYDLYHPLSGRSNA (SEQ ID NO: 375)
LSSGLLSSGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 296)	HEQLTVLSGRSNA (SEQ ID NO: 376)
GKQLRVVNEYSSDNMLLG (SEQ ID NO: 297)	RAAAVKSPLSGRSNA (SEQ ID NO: 377)
LSSGLLSGRSESP (SEQ ID NO: 298)	TSVLMAAPLSGRSNA (SEQ ID NO: 378)
LSSGLLSGRSEQP (SEQ ID NO: 299)	IPVSLRSGRSNAQRLE (SEQ ID NO: 379)
LSSGLLSGRSEQH (SEQ ID NO: 300)	VPLSLYRQARVVG (SEQ ID NO: 380)
MPYDLYH (SEQ ID NO: 301)	DSGGFMLTRQARVVG (SEQ ID NO: 381)
LSGRSDNH (SEQ ID NO: 302)	GGIGQLTARQARVVG (SEQ ID NO: 382)
GSIPVSLRSG (SEQ ID NO: 306)	MPYDLYHPRQARVVG (SEQ ID NO: 383)
GPSGPAGLKGAPG (SEQ ID NO: 307)	HEQLTVRQARVVG (SEQ ID NO: 384)
GPPGPAGMKGLPG (SEQ ID NO: 308)	RAAAVKSPRQARVVG (SEQ ID NO: 385)
GYVADAPK (SEQ ID NO: 309)	TSVLMAAPRQARVVG (SEQ ID NO: 386)
KKLADEPE (SEQ ID NO: 310)	KQLRVVNEYSSMDNMLLG (SEQ ID NO: 387)
GGSRPAHLRDSGK (SEQ ID NO: 311)	KQLRVVNEYSSDNMLLG (SEQ ID NO: 388)
SFTQARVVG (SEQ ID NO: 312)	KQLRVVNGYSSDNMLLG (SEQ ID NO: 389)
VHMPLGFLGPRQARVVN (SEQ ID NO: 313)	KQLRVVGGLVHLKNTMET (SEQ ID NO: 390)
LSGRSDNHSPLGLAGS (SEQ ID NO: 314)	TRDRLDEVNFKQLRVVNG (SEQ ID NO: 391)
VPLSLYSG (SEQ ID NO: 315)	TRDRLDEVNFKLLRVVNG (SEQ ID NO: 392)
IPESLRAG (SEQ ID NO: 316)	TRDRLDPVNFKQLRVVNG (SEQ ID NO: 393)
IPVSLRSG (SEQ ID NO: 317)	TRDRLDPVNFKLLRVVNG (SEQ ID NO: 394)
TYSRSKYLATA (SEQ ID NO: 399)	NPMGSEPVNFKQLRVVNG (SEQ ID NO: 399)

	395)
TYSRSRYLATA (SEQ ID NO: 400)	NPMGSEPVNFKLLRVVNG (SEQ ID NO: 396)
KQLRVVNEYSSE (SEQ ID NO: 401)	NPMGSDPVNFKQLRVVNG (SEQ ID NO: 397)
KQLRVVNGYSSE (SEQ ID NO: 402)	NPMGSDPVNFKLLRVVNG (SEQ ID NO: 398)
KQLRVVGGGLVAL (SEQ ID NO: 403)	AGQPKQLRVVNG (SEQ ID NO: 494)
KQLRVVNGGLVAL (SEQ ID NO: 404)	AGQPLQLRVVNG (SEQ ID NO: 495)
SPGRVVGGLVAL (SEQ ID NO: 405)	AGQPLQERVVNG (SEQ ID NO: 496)
PQPRTYSRSRYL (SEQ ID NO: 406)	AGQPKQERVVNG (SEQ ID NO: 497)
PQPRTTSRSRYL (SEQ ID NO: 407)	GTANKQLRVVNG (SEQ ID NO: 498)
VVNEYSSSRGPYH (SEQ ID NO: 408)	GTANKQLHVVNG (SEQ ID NO: 499)
VVNEYSSSERGPYH (SEQ ID NO: 409)	GTANIQLRVVNG (SEQ ID NO: 500)
NKVSMSSSSRGPYH (SEQ ID NO: 410)	GTANIQLHVVNG (SEQ ID NO: 501)
NKVSMSSTRGPYH (SEQ ID NO: 411)	KQLRTVAGLAGK (SEQ ID NO: 504)
APAMMRGSVILTV (SEQ ID NO: 412)	KQLRTVNGLAGK (SEQ ID NO: 505)
APAMMEGSVILTV (SEQ ID NO: 413)	KQLRVVAGLAGK (SEQ ID NO: 506)
RGSVIITVQTVTW (SEQ ID NO: 414)	KQLRVVNGLAGK (SEQ ID NO: 507)
RGSVILTVQTVTW (SEQ ID NO: 415)	GIKYKQLRVVNG (SEQ ID NO: 508)
RKGKALAAAYRLE (SEQ ID NO: 420)	GIKYKYLRVVNG (SEQ ID NO: 509)
RKGKAGAAAYRLE (SEQ ID NO: 421)	GIKYLQLRVVNG (SEQ ID NO: 510)
RQARVVGGLVAL (SEQ ID NO: 422)	GIKYLYLRVVNG (SEQ ID NO: 511)
GGVRGPRFKIIGG (SEQ ID NO: 423)	THLDLTYSRSKYLATA (SEQ ID NO: 512)
GGVRGPRVKIIGG (SEQ ID NO: 424)	THLDLTPSRSKYLATA (SEQ ID NO: 513)
VTGRGDShSLTTN (SEQ ID NO: 425)	THLDLTYSRSRYLATA (SEQ ID NO: 514)
VTGRGDSPSLTTN (SEQ ID NO: 426)	THLDLTPSRSRYLATA (SEQ ID NO: 515)
TGHGQASQGLLDR (SEQ ID NO: 427)	TYSRSKYLAPANGNAE (SEQ ID NO: 516)
TGHGQASSGLLDR (SEQ ID NO: 428)	TYSRSKYLATANGNAE (SEQ ID NO: 517)
KQLRVVNENLENY (SEQ ID NO: 429)	TYSRSRYLAPANGNAE (SEQ ID NO: 518)
KQLRVVNGNLENY (SEQ ID NO: 430)	TYSRSRYLATANGNAE (SEQ ID NO: 519)
SNVNDVANYNFF (SEQ ID NO: 431)	DPVNFKQLRVVNEYSSE (SEQ ID NO: 520)
SNVNDVSNYNFF (SEQ ID NO: 432)	DPVNFKQLRVVNGYSSE (SEQ ID NO: 521)

	521)
IDFNAAQNLYEK (SEQ ID NO: 433)	DPVNFKKLRVVNEYSSE (SEQ ID NO: 522)
IDFNAAYNLYEK (SEQ ID NO: 434)	DPVNFKKLRVVNGYSSE (SEQ ID NO: 523)
IQWNAGQPLQER (SEQ ID NO: 435)	RKKGAGAAKNLNEKDY (SEQ ID NO: 524)
IQWNAPQPLQER (SEQ ID NO: 436)	RKKGAGAAKNLYEKDY (SEQ ID NO: 525)
SMDNRLGLFGE (SEQ ID NO: 437)	RKKGAGAAQNLNEKDY (SEQ ID NO: 526)
SMDNMLLGLFGE (SEQ ID NO: 438)	RKKGAGAAQNLNEKDY (SEQ ID NO: 527)
VPIDDPQDLLEG (SEQ ID NO: 439)	VTGRGDShSLTKNQVSL (SEQ ID NO: 528)
VPIDDPEDLLEG (SEQ ID NO: 440)	VTGRGDShSLTTNQVSL (SEQ ID NO: 529)
IPENLPPGLPLT (SEQ ID NO: 441)	VTGRGDSPSLTKNQVSL (SEQ ID NO: 530)
IPENLPPLLPLT (SEQ ID NO: 442)	VTGRGDSPSLTTNQVSL (SEQ ID NO: 531)
QPPSLTKNQVSL (SEQ ID NO: 443)	TGHGQASSERSSNIRTS (SEQ ID NO: 532)
QPPSLTRNQVSL (SEQ ID NO: 444)	TGHGQASSERSSNSRTS (SEQ ID NO: 533)
DSHSLTKNQVSL (SEQ ID NO: 445)	TGHGQASSERSSTIRTS (SEQ ID NO: 534)
DSHSLTTNQVSL (SEQ ID NO: 446)	TGHGQASSERSSTSRTS (SEQ ID NO: 535)
KAIQLTKNQVSL (SEQ ID NO: 447)	DPVNFKLLRVVNEYSSE (SEQ ID NO: 538)
KAIQLTYNQVSL (SEQ ID NO: 448)	DPVNFKLLRVVNGYSSE (SEQ ID NO: 539)
AEPWTRNTDGS (SEQ ID NO: 449)	DPVNFKQLRVVGGGLVAL (SEQ ID NO: 540)
AEPWTVRNTDGS (SEQ ID NO: 450)	DPVNFKQLRVVNGGLVAL (SEQ ID NO: 541)

KQLRVVNG (SEQ ID NO: 451)	DPVNFKLLRVVGGGLVAL (SEQ ID NO: 542)
KQLRVVTGRGDSP (SEQ ID NO: 452)	DPVNFKLLRVVNGGLVAL (SEQ ID NO: 543)
KQLRVVNGRGRGDSP (SEQ ID NO: 453)	KQLRVQNGDSTE (SEQ ID NO: 544)
PSSRRRVVRKGVV (SEQ ID NO: 454)	KQLRVVNNDATE (SEQ ID NO: 545)
PSSRRRVNRKGVV (SEQ ID NO: 455)	KQLRVVNGDSTE (SEQ ID NO: 546)
SPGRVVTGRGDSP (SEQ ID NO: 456)	ISNNKQLRVVNG (SEQ ID NO: 547)
SPGRVVGGRGRGDSP (SEQ ID NO: 457)	ISNNKQLPVVNG (SEQ ID NO: 548)
NSGRAVTGRGDSP (SEQ ID NO: 458)	ISNNEQLRVVNG (SEQ ID NO: 549)
NSGRAVTYRGRGDSP (SEQ ID NO: 459)	ISNNEQLPVVNG (SEQ ID NO: 550)
TGHGQPSSRRRVN (SEQ ID NO: 460)	KVSNKQLRVVNG (SEQ ID NO: 551)
TGHGQASSRRRVN (SEQ ID NO: 461)	KVSNKQLPVVNG (SEQ ID NO: 552)
TGHGQSSSRGPYH (SEQ ID NO: 462)	KVSNKALRVVNG (SEQ ID NO: 553)
TGHGQASSRGPYH (SEQ ID NO: 463)	KVSNKALPVVNG (SEQ ID NO: 554)
RGSVILTKNQVSL (SEQ ID NO: 464)	KQLRVQNNDATE (SEQ ID NO: 555)
RGSVILTVNQVSL (SEQ ID NO: 465)	TGHGQRSSNIRTS (SEQ ID NO: 480)
SPGRVVGINYWLA (SEQ ID NO: 466)	TGHGQASSNIRTS (SEQ ID NO: 481)
SPGRVVGGNYWLA (SEQ ID NO: 467)	TGHGQHSSNIANI (SEQ ID NO: 482)
SPGRVVGSNKGAI (SEQ ID NO: 468)	TGHGQASSNIANI (SEQ ID NO: 483)
SPGRVVGGNKGAI (SEQ ID NO: 469)	TGHGQASRNDYSY (SEQ ID NO: 484)
PGARGRAPNHAVV (SEQ ID NO: 470)	TGHGQASSNDYSY (SEQ ID NO: 485)
PGARGRAFNHAVV (SEQ ID NO: 471)	KALHVTVNRNTDGS (SEQ ID NO: 486)
PGARGNAFNNDLDR (SEQ ID NO: 472)	KALHVTVNINTDGS (SEQ ID NO: 487)
PGARGRAFNNLDR (SEQ ID NO: 473)	RVVRKKVSNKALP (SEQ ID NO: 488)
VSNKYISNNEQLP (SEQ ID NO: 474)	RVVRKGVSNKALP (SEQ ID NO: 489)
VSNKYFSNNEQLP (SEQ ID NO: 475)	RQARVVGINYWLA (SEQ ID NO: 490)
KVSNKALHVTNI (SEQ ID NO: 476)	RQARVVGGNYWLA (SEQ ID NO: 491)
KVSNKALPVTNI (SEQ ID NO: 477)	
VTGRGSPDVPLT (SEQ ID NO: 478)	
VTGRGDSPDVPLT (SEQ ID NO: 479)	

[274] В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-

555. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 281, 293, 297, 399-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 264. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-131 и 264, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-131, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242. В вариантах осуществления, в которых расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, эти две аминокислотные последовательности могут быть связаны в любом порядке. Например, в вариантах осуществления, в которых расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, содержит N-конец и C-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с N-концом или C-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555. В некоторых вариантах осуществления, в которых расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-131 и 264, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-131 и 264, содержит N-конец и C-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с

N-концом или C-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-131 и 264.

[275] В некоторых вариантах осуществления одна или несколько дополнительных аминокислот включаются путем добавления в аминокислотную последовательность расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько аминокислот, которые включены путем добавления в аминокислотную последовательность расщепляемого пептида, выбирают из группы, состоящей из гидрофильных аминокислот (например лизина, аргинина, гистидина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, аспарагина или глутамина), гидрофобных аминокислот (например аланина, валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, тирозина, триптофана, цистеина, глицина или пролина), полярных аминокислоты (например серина, треонина, цистеина, аспарагина, глутамина или тирозина), неполярных аминокислот (например глицина, аланина, валина, пролина, лейцина, изолейцина, метионина, триптофана или фенилаланина), аминокислот с алифатическими боковыми цепями (например глицина, аланина, валина, лейцина или изолейцина), аминокислот с гидроксилсодержащими боковыми цепями (например серина или треонина), аминокислот с серосодержащими боковыми цепями (например цистеина или метионина), заряженных аминокислот (например аргинина, лизина, аспарагиновой кислоты или глутаминовой кислоты), незаряженных аминокислот (например серина, треонина, аспарагина или глутамина), ароматических аминокислот (например тирозина, триптофана или фенилаланина), циклических аминокислот (например пролина), кислых аминокислот (например аспарагиновой кислоты, аспарагина, глутаминовой кислоты или глутамина), основных аминокислот (например гистидина, лизина или аргинина) и объемных аминокислот (например фенилаланина, тирозина или триптофана). В некоторых вариантах осуществления глицин (G) вводят путем добавления к N-концу и/или C-концу аминокислотной последовательности расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления глицин (G) и пролин (P) вводят путем добавления к N-концу и/или C-концу аминокислотной последовательности расщепляемого пептида, например путем включения аминокислотной последовательности GP или PG в N-конец и/или C-конец аминокислотной последовательности расщепляемого пептида.

[276] Расщепляемый пептид содержит аминоконец и карбоксиконец. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид связан с N-концевым спейсерным доменом и/или C-концевым спейсерным доменом. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен связан с аминоконцом расщепляемого пептида. В некоторых вариантах C-концевой спейсерный домен связан с карбоксиконцом расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен связан с аминоконцом расщепляемого пептида, и C-концевой спейсерный домен связан с карбоксиконцом расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен связан с аминоконцом расщепляемого пептида, и C-концевой спейсерный домен связан с карбоксиконцом расщепляемого пептида.

[277] В некоторых вариантах осуществления аминоконец расщепляемого пептида связан с компонентом, отличным от N-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления карбоксиконец расщепляемого пептида связан с компонентом, отличным от C-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или карбоксиконцом расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления первый домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или карбоксиконцом расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления второй домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или карбоксиконцом расщепляемого пептида.

2. Спейсерные домены

[278] В некоторых вариантах осуществления линкер содержит спейсерный домен. Термин «спейсерный домен» в контексте настоящего документа может в некоторых вариантах осуществления относиться к N-концевому спейсерному домену и/или C-концевому спейсерному домену. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит N-концевой спейсерный домен и/или C-концевой спейсерный домен. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит N-концевой спейсерный домен. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит C-концевой спейсерный домен. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит N-концевой спейсерный домен и C-концевой спейсерный домен. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит N-концевой спейсерный домен и расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит расщепляемый пептид и C-концевой спейсерный домен. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит N-концевой спейсерный домен, расщепляемый пептид и C-концевой спейсерный домен.

[279] В некоторых вариантах осуществления, таких как некоторые варианты осуществления, имеющие более одного N-концевого спейсерного домена, N-концевой спейсерный домен может называться первым N-концевым спейсерным доменом, вторым N-концевым спейсерным доменом или третьим N-концевым спейсерным доменом, каждый из которых считается «N-концевым спейсерным доменом» и может представлять собой любой из N-концевых спейсерных доменов, описанных в настоящем документе. Аналогичным образом, в некоторых вариантах осуществления, таких как некоторые варианты осуществления, имеющие более одного C-концевого спейсерного домена, C-концевой спейсерный домен может называться первым C-концевым спейсерным доменом, вторым C-концевым спейсерным доменом или третьим C-концевым спейсерным доменом, каждый из которых считается «C-концевым спейсерным доменом» и может представлять собой любой из C-концевых спейсерных доменов, описанных в настоящем документе. Например, ссылка на «N-концевой спейсерный домен» или «данный N-концевой

спейсерный домен» может относиться к N-концевому спейсерному домену в маскированном цитокине, содержащем один N-концевой спейсерный домен, или может относиться к первому N-концевому спейсерному домену в маскированном цитокине, содержащем первый N-концевой спейсерный домен и второй N-концевой спейсерный домен, или она может относиться ко второму N-концевому спейсерному домену в маскированном цитокине, содержащем первый N-концевой спейсер домен и второй N-концевой спейсерный домен, или она может относиться к первому N-концевому спейсерному домену и второму N-концевому спейсерному домену в маскированном цитокине, содержащем первый N-концевой спейсерный домен и второй N-концевой спейсерный домен, или она может относиться к первому N-концевому спейсерному домену, второму N-концевому спейсерному домену и/или третьему N-концевому спейсерному домену в маскированном цитокине, содержащем первый N-концевой спейсерный домен, второй N-концевой домен спейсерный домен и третий N-концевой спейсерный домен.

[280] Каждый из N-концевого спейсерного домена и C-концевого спейсерного домена содержат аминоконец и карбоксиконец. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом N-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом N-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или карбоксиконцом N-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления первый домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или карбоксиконцом N-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления второй домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или карбоксиконцом N-концевого спейсерного домена.

[281] В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с аминоконцом C-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент связан с аминоконцом C-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни связан с аминоконцом C-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления первый домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или C-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления второй домен продления периода полужизни связан с аминоконцом или C-концевого спейсерного домена.

[282] В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с аминоконцом N-концевого спейсерного домена, и домен продления периода полужизни связан с карбоксиконцом N-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент связан с аминоконцом N-концевого спейсерного домена, и домен продления периода полужизни связан с карбоксиконцом N-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления

аминоконцом С-концевого спейсерного домена, и либо цитокин или его функциональный фрагмент, либо второй маскирующий фрагмент связан с карбоксиконцом С-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни, второй домен продления периода полужизни, первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент, второй домен продления периода полужизни связан с карбоксиконцом С-концевого спейсерного домена, и либо цитокин или его функциональный фрагмент, либо второй маскирующий фрагмент связан с аминоконцом С-концевого спейсерного домена.

[295] В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством линкера. В некоторых вариантах осуществления линкер, связывающий первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, содержит N-концевой спейсерный домен и/или С-концевой спейсерный домен. В некоторых вариантах осуществления линкер, связывающий первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, содержит расщепляемый пептид и N-концевой спейсерный домен и/или С-концевой спейсерный домен. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, которые связаны вместе посредством линкера, линкер содержит аминоконец и карбоксиконец, и первый домен продления периода полужизни связан с аминоконцом линкера и второй домен продления периода полужизни связан с карбоксиконцом линкера. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, которые связаны вместе посредством линкера, линкер содержит аминоконец и карбоксиконец, и первый домен продления периода полужизни связан с карбоксиконцом линкера и второй домен продления периода полужизни связан с аминоконцом линкера.

[296] В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799. В некоторых вариантах осуществления С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799, и С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

[297] В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ

ID NO: 20-95, 235, 268 и 269. В некоторых вариантах осуществления С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268 и 269. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268 и 269, и С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268 и 269. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит N-концевой спейсерный домен, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268 и 269, и С-концевой спейсерный домен, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268 и 269. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит N-концевой спейсерный домен, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 268, и С-концевой спейсерный домен, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 269. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит N-концевой спейсерный домен, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 268, расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 264, и С-концевой спейсерный домен, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 269. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит N-концевой спейсерный домен, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 269, и С-концевой спейсерный домен, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 268. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит N-концевой спейсерный домен, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 269, расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 264, и С-концевой спейсерный домен, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 268.

[298] В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268 и 269. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268 и 269. В некоторых вариантах осуществления С-концевой спейсерный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%,

98% или 99% идентичность последовательности с любой аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799. В некоторых вариантах осуществления С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268 и 269. В некоторых вариантах С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268 и 269. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268 и 269, и С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268 и 269. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268 и 269, и С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268 и 269. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 268, и С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 269. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 268, расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 264, и С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 269. Иллюстративные спейсерные домены (например, N-концевые спейсерные домены и/или С-концевые спейсерные домены) представлены в

GGG (SEQ ID NO: 45)	SGS (SEQ ID NO: 727)
GGGSSGGG (SEQ ID NO: 46)	SG (SEQ ID NO: 794)
GGSGG (SEQ ID NO: 47)	GSG (SEQ ID NO: 799)
GGGS (SEQ ID NO: 48)	PGPGP (SEQ ID NO: 323)
GS (SEQ ID NO: 48)	SGGCGGHQYERRGGC (SEQ ID NO: 324)
GSGGGSSGGG (SEQ ID NO: 50)	SGGCSGHQYERREGC (SEQ ID NO: 325)
GSSGGG (SEQ ID NO: 51)	SGGCGGHYFERHGGC (SEQ ID NO: 326)
GGGSSGGSG (SEQ ID NO: 52)	SGGCSGHYFERHEGC (SEQ ID NO: 327)
GGGAGGS (SEQ ID NO: 53)	SGGCSFHQYERHEGC (SEQ ID NO: 328)
GHS (SEQ ID NO: 54)	PSGSS (SEQ ID NO: 329)
GPS (SEQ ID NO: 55)	GSPG (SEQ ID NO: 330)
GAS (SEQ ID NO: 56)	GGSPGG (SEQ ID NO: 331)
SGG (SEQ ID NO: 57)	GGPGGP (SEQ ID NO: 332)
SGGSGG (SEQ ID NO: 58)	GGSG (SEQ ID NO: 333)
SSG (SEQ ID NO: 59)	GSPPGG (SEQ ID NO: 334)
GGGSGG (SEQ ID NO: 60)	GPGSPG (SEQ ID NO: 335)
GG (SEQ ID NO: 61)	GSSPPG (SEQ ID NO: 336)
GGG (SEQ ID NO: 62)	GGP (SEQ ID NO: 337)
SHGG (SEQ ID NO: 63)	SGPGSGS (SEQ ID NO: 338)
HGGG (SEQ ID NO: 64)	SGPGSGS (SEQ ID NO: 340)
SGAA (SEQ ID NO: 65)	SGSGGSP (SEQ ID NO: 341)
SGPA (SEQ ID NO: 66)	GGGSSP (SEQ ID NO: 303)
GGSGGS (SEQ ID NO: 67)	SGGP (SEQ ID NO: 304)
GGSGGP (SEQ ID NO: 68)	SGPSGSPG (SEQ ID NO: 305)
GGSGGG (SEQ ID NO: 69)	
GSGGPGPS (SEQ ID NO: 70)	
SGPPGSS (SEQ ID NO: 71)	
SSGGSGP (SEQ ID NO: 72)	
SSPSPSGG (SEQ ID NO: 73)	

[299] В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью модификации аминокислотной последовательности любого из N-концевых спейсерных доменов, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью модификации аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799. В некоторых вариантах осуществления C-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью модификации аминокислотной последовательности любого из C-концевых спейсерных доменов, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления C-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью модификации аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью модификации аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799, и C-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью модификации аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен и/или C-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28.

[300] В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен и/или C-концевой спейсерный домен состоит из одной или нескольких аминокислот. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько аминокислот N-концевого спейсерного домена и/или C-концевого спейсерного домена выбирают из группы, состоящей из гидрофильных аминокислот (например лизина, аргинина, гистидина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, аспарагина или глутамина), гидрофобных аминокислот (например аланина, валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, тирозина, триптофана, цистеина, глицина или пролина), полярных аминокислоты (например серина, треонина, цистеина, аспарагина, глутамина или тирозина), неполярных аминокислот (например глицина, аланина, валина, пролина, лейцина, изолейцина, метионина, триптофана или фенилаланина), аминокислот с алифатическими боковыми цепями (например глицина, аланина, валина, лейцина или изолейцина), аминокислот с гидроксилсодержащими боковыми цепями (например серина или треонина), аминокислот с серосодержащими боковыми цепями (например цистеина или метионина), заряженных аминокислот (например аргинина, лизина, аспарагиновой кислоты или глутаминовой кислоты), незаряженных аминокислот (например серина, треонина, аспарагина или глутамина), ароматических аминокислот (например тирозина, триптофана или фенилаланина), циклических аминокислот (например пролина), кислых

аминокислот (например аспарагиновой кислоты, аспарагина, глутаминовой кислоты или глутамина), основных аминокислот (например гистидина, лизина или аргинина) и объемных аминокислот (например фенилаланина, тирозина или триптофана). В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен и/или C-концевой спейсерный домен состоит из глицина (G). В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен и/или C-концевой спейсерный домен состоит из глицина (G) и пролина (P) и имеет аминокислотную последовательность GP или PG.

[301] Следует понимать, что модификация «спейсерного домена», как описано в некоторых вариантах осуществления, может относиться к модификации любого одного или нескольких спейсерных доменов, описанных в настоящем документе (например любого N-концевого спейсерного домена и/или любого C-концевого спейсерного домена, описанного в настоящем документе). Например, модификация спейсерного домена может относиться к (a) модификации любого N-концевого спейсерного домена, описанного в настоящем документе, (b) модификации любого C-концевого спейсерного домена, описанного в настоящем документе, или (c) модификации любого N-концевого спейсерного домена и любого C-концевого спейсерного домена, описанного в настоящем документе. Таким образом, любой из линкеров, описанных в настоящем документе, которые содержат N-концевой спейсерный домен, включает варианты осуществления, в которых N-концевой спейсерный домен модифицирован в соответствии с модификациями, описанными в настоящем документе, любой из линкеров, описанных в данном документе, которые содержат C-концевой спейсерный домен. включает варианты осуществления, в которых C-концевой спейсерный домен модифицирован в соответствии с модификациями, описанными в настоящем документе, и любой из линкеров, описанных в настоящем документе, которые содержат N-концевой спейсерный домен и C-концевой спейсерный домен, включает варианты осуществления, в которых N-концевой спейсерный домен и/или C-концевой спейсерный домен модифицирован/модифицированы в соответствии с модификациями, описанными в настоящем документе.

[302] Модификация последовательности N-концевого спейсерного домена и/или C-концевого спейсерного домена может представлять собой любую модификацию аминокислотной последовательности спейсерного домена, включая включение любой дополнительной аминокислоты в последовательность, замену любой аминокислоты на другую аминокислоту и/или удаление любой аминокислоты из последовательности.

[303] В некоторых вариантах осуществления одна или несколько дополнительных аминокислот включают путем добавления в аминокислотную последовательность N-концевого спейсерного домена и/или C-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько аминокислот, которые включают путем добавления в аминокислотную последовательность N-концевого спейсерного домена и/или C-концевого спейсерного домена выбирают из группы, состоящей из гидрофильных аминокислот (например лизина, аргинина, гистидина, аспарагиновой кислоты,

глутаминовой кислоты, серина, треонина, аспарагина или глутамин), гидрофобных аминокислот (например аланина, валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, тирозина, триптофана, цистеина, глицина или пролина), полярных аминокислоты (например серина, треонина, цистеина, аспарагина, глутамин или тирозина), неполярных аминокислот (например глицина, аланина, валина, пролина, лейцина, изолейцина, метионина, триптофана или фенилаланина), аминокислот с алифатическими боковыми цепями (например глицина, аланина, валина, лейцина или изолейцина), аминокислот с гидроксилсодержащими боковыми цепями (например серина или треонина), аминокислот с серосодержащими боковыми цепями (например цистеина или метионина), заряженных аминокислот (например аргинина, лизина, аспарагиновой кислоты или глутаминовой кислоты), незаряженных аминокислот (например серина, треонина, аспарагина или глутамин), ароматических аминокислот (например тирозина, триптофана или фенилаланина), циклических аминокислот (например пролина), кислых аминокислот (например аспарагиновой кислоты, аспарагина, глутаминовой кислоты или глутамин), основных аминокислот (например гистидина, лизина или аргинина) и объемных аминокислот (например фенилаланина, тирозина или триптофана).

[304] В некоторых вариантах осуществления одна или несколько аминокислот заменяют в аминокислотной последовательности N-концевого спейсерного домена и/или C-концевого спейсерного домена. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько аминокислот, которые заменяют в аминокислотной последовательности спейсерного домена, выбирают из группы, состоящей из гидрофильных аминокислот (например лизина, аргинина, гистидина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, аспарагина или глутамин), гидрофобных аминокислот (например аланина, валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, тирозина, триптофана, цистеина, глицина или пролина), полярных аминокислоты (например серина, треонина, цистеина, аспарагина, глутамин или тирозина), неполярных аминокислот (например глицина, аланина, валина, пролина, лейцина, изолейцина, метионина, триптофана или фенилаланина), аминокислот с алифатическими боковыми цепями (например глицина, аланина, валина, лейцина или изолейцина), аминокислот с гидроксилсодержащими боковыми цепями (например серина или треонина), аминокислот с серосодержащими боковыми цепями (например цистеина или метионина), заряженных аминокислот (например аргинина, лизина, аспарагиновой кислоты или глутаминовой кислоты), незаряженных аминокислот (например серина, треонина, аспарагина или глутамин), ароматических аминокислот (например тирозина, триптофана или фенилаланина), циклических аминокислот (например пролина), кислых аминокислот (например аспарагиновой кислоты, аспарагина, глутаминовой кислоты или глутамин), основных аминокислот (например гистидина, лизина или аргинина) и объемных аминокислот (например фенилаланина, тирозина или триптофана).

[305] В некоторых вариантах осуществления модификация аминокислотной последовательности N-концевого спейсерного домена и/или C-концевого спейсерного

домена включает замену по меньшей мере одной гидрофильной аминокислоты на гидрофобную аминокислоту, замену по меньшей мере одной гидрофобной аминокислоты на гидрофильную аминокислоту, замену по меньшей мере одной полярной аминокислоты на неполярную аминокислоту, замену по меньшей мере одной неполярной аминокислоты на полярную аминокислоту, замену по меньшей мере одной заряженной аминокислоты на незаряженную аминокислоту, замену по меньшей мере одной незаряженной аминокислоты на заряженную аминокислоту, замену по меньшей мере одной кислой аминокислоты на основную аминокислоту, замену по меньшей мере одной основной аминокислоты на кислую аминокислоту, замену по меньшей мере одной необъемной аминокислоты на объемную аминокислоту, замену по меньшей мере одной объемной аминокислоты на необъемную аминокислоту, замену по меньшей мере одной аминокислоты с гидроксилсодержащей боковой цепью или серосодержащей боковой цепи на алифатическую аминокислоту, замену по меньшей мере одной аминокислоты с гидроксилсодержащей боковой цепью или серосодержащей боковой цепи на ароматическую аминокислоту, или замену по меньшей мере одной ароматической аминокислоты на аминокислоту с гидроксилсодержащей боковой цепью или серосодержащей боковой цепи.

[306] В некоторых вариантах осуществления одну или несколько аминокислот, которые удаляют из аминокислотной последовательности N-концевого спейсерного домена и/или C-концевого спейсерного домена выбирают из группы, состоящей из гидрофильных аминокислот (например лизина, аргинина, гистидина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, аспарагина или глутамина), гидрофобных аминокислот (например аланина, валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, тирозина, триптофана, цистеина, глицина или пролина), полярных аминокислоты (например серина, треонина, цистеина, аспарагина, глутамина или тирозина), неполярных аминокислот (например глицина, аланина, валина, пролина, лейцина, изолейцина, метионина, триптофана или фенилаланина), аминокислот с алифатическими боковыми цепями (например глицина, аланина, валина, лейцина или изолейцина), аминокислот с гидроксилсодержащими боковыми цепями (например серина или треонина), аминокислот с серосодержащими боковыми цепями (например цистеина или метионина), заряженных аминокислот (например аргинина, лизина, аспарагиновой кислоты или глутаминовой кислоты), незаряженных аминокислот (например серина, треонина, аспарагина или глутамина), ароматических аминокислот (например тирозина, триптофана или фенилаланина), циклических аминокислот (например пролина), кислых аминокислот (например аспарагиновой кислоты, аспарагина, глутаминовой кислоты или глутамина), основных аминокислот (например гистидина, лизина или аргинина) и объемных аминокислот (например фенилаланина, тирозина или триптофана).

[307] Любая из модификаций спейсерных доменов, описанных в настоящем документе (например любого N-концевого спейсерного домена и/или любого C-концевого спейсерного домена) может представлять собой модификацию аминокислотной

последовательности любого из N-концевых спейсерных доменов и/или C-концевых спейсерных доменов, описанных в настоящем документе, включая любую из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799. Любая из модификаций спейсерных доменов, описанных в настоящем документе, может представлять собой модификации, выполненные для любых целей. Например, модификации N-концевого спейсерного домена и/или C-концевого спейсерного домена линкера, который содержит расщепляемый пептид, могут быть выполнены с целью изменения конформации линкера таким образом, что эффективность расщепления расщепляемого пептида изменяется. Модификации N-концевого спейсерного домена и/или C-концевого спейсерного домена линкера, который содержит расщепляемый пептид, также могут быть выполнены с целью изменения структуры линкера, который содержит расщепляемый пептид таким образом, что эффективность расщепления расщепляемого пептида изменяется при определенных условиях рН.

Домены продления периода полужизни

[308] Длительный период полужизни *in vivo* является важным для терапевтических белков. К сожалению, цитокины, которые вводят субъекту, обычно имеют короткий период полужизни, поскольку они обычно быстро выводятся из организма субъекта с помощью механизмов, включая выведение почками и эндоцитозное расщепление. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления маскированного цитокина, предложенного в настоящем документе, домен продления периода полужизни связан с маскированным цитокином с целью продления периода полужизни цитокина *in vivo*.

[309] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, предложенный в настоящем документе, содержит домен продления периода полужизни, выбранный из группы, состоящей из антител и их фрагментов, альбумина, альбуминсвязывающих белков, IgG-связывающих белков и полиаминокислотных последовательностей. Предполагается, что также могут быть использованы другие механизмы для увеличения периода полужизни маскированного цитокина, доступные в данной области техники. Домен продления периода полужизни содержит аминоконец и карбоксиконец.

[310] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит домен продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит один домен продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит более одного домена продления периода полужизни, каждый из которых может представлять собой любой из доменов продления периода полужизни, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни. Следует понимать, что ссылка на «домен продления периода полужизни» или «данный домен продления периода полужизни» может относиться к домену продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем один домен продления периода

полужизни, или может относиться к первому домену продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, или он может относиться ко второму домену продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, или он может относиться к первому домену продления периода полужизни и второму домену продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни.

[311] В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни связан со вторым доменом продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством линкера. Первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, которые связаны, в некоторых вариантах осуществления могут представлять собой любой домен продления периода полужизни, описанный в настоящем документе. Например, в некоторых вариантах осуществления первый домен продления периода полужизни и/или второй домен продления периода полужизни связанных первого и второго доменов продления периода полужизни представляет собой Fc-домен или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления первый домен продления периода полужизни и/или второй домен продления периода полужизни связанных первого и второго доменов продления периода полужизни представляет собой антитело или его фрагмент, вариант или производное.

1. Антитела и их фрагменты

[312] В результате связывания маскированного цитокина с антителом или его фрагментом, которое способно к FcRn-опосредованной рециркуляции, клиренс маскированного цитокина из организма субъекта можно снизить или иным образом замедлить, тем самым продлевая период полужизни введенного маскированного цитокина.

[313] В некоторых вариантах осуществления маскированного цитокина домен продления периода полужизни содержит антитело или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит более одного антитела или его фрагмента, каждое из которых может представлять собой любое из антител или их фрагментов, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, каждый из которых содержит антитело или его фрагмент. Следует понимать, что ссылка на «антитело или его фрагмент» или «данное антитело или его фрагмент» может относиться к антителу или его фрагменту домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем один домен

продления периода полужизни, или он может относиться к антителу или его фрагменту первого домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, или он может относиться к антителу или его фрагменту второго домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, или он может относиться к антителу или его фрагменту первого домена продления периода полужизни и антителу или его фрагменту второго домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащим первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни.

[314] Антитело или его фрагмент может представлять собой любое антитело или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент представляет собой любое антитело или его фрагмент, способный к FcRn-опосредованной рециркуляции, такой как любой полипептид тяжелой цепи или его часть (например, Fc-домен или его фрагмент), способный к FcRn-опосредованной рециркуляции. Однако в некоторых вариантах осуществления маскированного цитокина, содержащего первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, либо первый домен продления периода полужизни, либо второй домен продления периода полужизни может содержать антитело или его фрагмент, который не связывается с FcRn-рецептором, таким как полипептид легкой цепи. Например, в некоторых вариантах осуществления маскированного цитокина первый домен продления периода полужизни содержит антитело или его фрагмент, который содержит полипептид легкой цепи или его часть, которая не взаимодействует непосредственно с FcRn-рецептором, но маскированный цитокин, тем не менее, имеет увеличенный период полужизни в результате включения второго домена продления периода полужизни, который способен взаимодействовать с FcRn-рецептором, например, посредством включения полипептида тяжелой цепи. В данной области техники известно, что FcRn-опосредованный рециклинг требует связывания FcRn-рецептора с Fc-областью антитела или его фрагмента. Например, исследования показали, что остатки I253, S254, H435 и Y436 (нумерация в соответствии с системой нумерации Kabat EU-индекса) важны для взаимодействия между Fc-областью человека и комплексом FcRn человека. См., например, Firan, M., et al., *Int. Immunol.* 13 (2001) 993-1002; Shields, R.L., et al, *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 6591-6604). Также были исследованы и описаны различные мутанты остатков 248-259, 301-317, 376-382 и 424-437 (нумерация в соответствии с системой нумерации Kabat EU-индекса). Yeung, Y.A., et al. (*J. Immunol.* 182 (2009) 7667-7671).

[315] В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержит полипептид тяжелой цепи или полипептид легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержит часть либо полипептида тяжелой цепи, либо полипептида легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержит Fc-домен или его фрагмент. В некоторых вариантах

осуществления антитело или его фрагмент содержит СН₂- и СН₃-домен или их фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержит константный домен полипептида тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержит константный домен полипептида легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержит полипептид тяжелой цепи или его фрагмент (например, Fc-домен или его фрагмент). В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержит полипептид легкой цепи.

[316] В некоторых вариантах осуществления полипептид тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158. В некоторых вариантах осуществления полипептид легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157. В некоторых вариантах осуществления полипептид тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 158. В некоторых вариантах осуществления полипептид тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 168. В некоторых вариантах осуществления полипептид тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 168. В некоторых вариантах осуществления полипептид тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 169. В некоторых вариантах осуществления полипептид тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 169.

[317] В некоторых вариантах осуществления полипептид легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 157. В некоторых вариантах осуществления полипептид легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 170. В некоторых вариантах осуществления полипептид легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 170.

[318] В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержит Fc-домен или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент представляет собой Fc-домен или его фрагмент.

[319] В некоторых вариантах осуществления Fc-домен или его фрагмент содержит

идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 772. В некоторых вариантах осуществления Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 773, или содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 773. В некоторых вариантах осуществления Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 774, или содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 774.

[320] В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 154-156, 265, 616, 619, 622, 625, 721,772-774, 793 и 796, и второй домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 154-156, 265, 616, 619, 622, 625, 721,772-774, 793 и 796. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 154-156, 265, 616, 619, 622, 625, 721,772-774, 793 и 796, и второй домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 154-156, 265, 616, 619, 622, 625, 721,772-774, 793 и 796. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит аминокислотную последовательность любого из первых доменов продления периода полужизни, представленных в Табл. 4-11, и второй домен продления периода полужизни содержит аминокислотную последовательность любого из первых доменов продления периода полужизни, представленных в Табл. 4-11.

[321] В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый

85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 169.

[338] В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких модификаций в аминокислотную последовательность домена продления периода полужизни, например, путем введения одной или нескольких аминокислотных замен, добавлений или делеций в аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 154-158, 168-170, 265, 616, 619, 622, 625, 721, 772-774, 793 и 796, или любой из аминокислотных последовательностей домена продления периода полужизни. Одна или несколько модификаций могут представлять собой любые модификации или изменения, описанными в настоящем документе, включая, в некоторых вариантах осуществления, любые модификации или изменения, раскрываемые в настоящем документе, которые способствуют гетеродимеризации полипептидных цепей и/или подавляют гомодимеризацию полипептидных цепей, изменяют эффекторную функцию или усиливают эффекторную функцию.

[339] В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни содержит полипептид тяжелой цепи, который содержит одну или несколько аминокислотных замен, изменяющих эффекторную функцию. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG1 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены): N297A, N297G или N297Q; L234A и L235A; C220S, C226S, C229S и P238S; C226S, C229S, E233P, L234V и L235A; L234F, L235E и P331S; S267E и L328F; D265A; и/или L234A, L235A и P329G, пронумерованную (пронумерованные) в соответствии с системой нумерации Kabat EU. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG1 и содержит одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из группы, состоящей из N297A, N297G, N297Q, L234A, L235A, C220S, C226S, C229S, P238S, E233P, L234V, L234F, L235E, P331S, S267E, L328F, D265A и P329G, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG2 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены): V234A и G237A; H268Q, V309L, A330S и A331S; или V234A, G237A, P238S, H268A, V309L и A330S, пронумерованную (пронумерованные) в соответствии с системой нумерации Kabat EU. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG2 и содержит одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из группы, состоящей из V234A, G237A, H268Q, V309L, A330S, A331S, P238S, H268A и V309L, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG4 и содержит аминокислотные замены: L235A, G237A и

E318A; S228P, L234A и L235A; H268Q, V309L, A330S и P331S; и/или S228P и L235A, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG2 и содержит одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из группы, состоящей из L235A, G237A, E318A, S228P, L234A, H268Q, V309L, A330S и P331S, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

[340] В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни содержит полипептид тяжелой цепи, который содержит одну или несколько аминокислотных замен, усиливающих эффекторную функцию. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG1 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены): S298A, E333A и K334A; S239D и I332E; S239D, A330L и I332E; P247I и A339D или A339Q; D280H и K290S; D280H, K290S, и либо S298D, либо S298V; F243L, R292P и Y300L; F243L, R292P, Y300L и P396L; F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L; G236A, S239D и I332E; K326A и E333A; K326W и E333S; K290E, S298G и T299A; K290E, S298G, T299A и K326E; K290N, S298G и T299A; K290N, S298G, T299A и K326E; K334V; L235S, S239D и K334V; K334V и Q331M, S239D, F243V, E294L или S298T; E233L, Q311M и K334V; L234I, Q311M и K334V; K334V и S298T, A330M или A330F; K334V, Q311M и либо A330M, либо A330F; K334V, S298T и либо A330M, либо A330F; K334V, S239D и либо A330M, либо S298T; L234Y, Y296W и K290Y, F243V или E294L; Y296W и либо L234Y, либо K290Y; S239D, A330S и I332E, V264I; F243L и V264I; L328M; I332E; L328M и I332E; V264I и I332E; S239E и I332E; S239Q и I332E; S239E; A330Y; I332D; L328I и I332E; L328Q и I332E; V264T; V240I; V266I; S239D; S239D и I332D; S239D и I332N; S239D и I332Q; S239E и I332D; S239E и I332N; S239E и I332Q; S239N и I332D; S239N и I332E; S239Q и I332D; A330Y и I332E; V264I, A330Y и I332E; A330L и I332E; V264I, A330L и I332E; L234E, L234Y или L234I; L235D, L235S, L235Y или L235I; S239T; V240M; V264Y; A330I; N325T; I332E и L328D, L328V, L328T или L328I; V264I, I332E и либо S239E, либо S239Q; S239E, V264I, A330Y и I332E; A330Y, I332E и либо S239D, либо S239N; A330L, I332E и либо S239D, либо S239N; V264I, S298A и I332E; S298A, I332E и либо S239D, либо S239N; S239D, V264I и I332E; S239D, V264I, S298A и I332E; S239D, V264I, A330L и I332E; S239D, I332E и A330I; P230A; P230A, E233D и I332E; E272Y; K274T, K274E, K274R, K274L или K274Y; F275W; N276L; Y278T; V302I; E318R; S324D, S324I или S324V; K326I или K326T; T335D, T335R или T335Y; V240I и V266I; S239D, A330Y, I332E и L234I; S239D, A330Y, I332E и L235D; S239D, A330Y, I332E и V240I; S239D, A330Y, I332E и V264T; и/или S239D, A330Y, I332E и либо K326E, либо K326T, пронумерованную (пронумерованные) в соответствии с системой нумерации Kabat EU. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG1 и содержит одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из группы, состоящей из: P230A, E233D, L234E, L234Y, L234I, L235D, L235S, L235Y, L235I, S239D, S239E, S239N, S239Q, S239T, V240I, V240M, F243L, V264I,

V264T, V264Y, V266I, E272Y, K274T, K274E, K274R, K274L, K274Y, F275W, N276L, Y278T, V302I, E318R, S324D, S324I, S324V, N325T, K326I, K326T, L328M, L328I, L328Q, L328D, L328V, L328T, A330Y, A330L, A330I, I332D, I332E, I332N, I332Q, T335D, T335R и T335Y.

[341] В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, который содержит одну или несколько аминокислотных замен, изменяющих эффекторную функцию. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой Fc-домен IgG1 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены): N297A, N297G или N297Q; L234A и L235A; C220S, C226S, C229S и P238S; C226S, C229S, E233P, L234V и L235A; L234F, L235E и P331S; S267E и L328F; D265A; и/или L234A, L235A и P329G, пронумерованную (пронумерованные) в соответствии с системой нумерации Kabat EU. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой Fc-домен IgG1 или его фрагмент и содержит одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из группы, состоящей из N297A, N297G, N297Q, L234A, L235A, C220S, C226S, C229S, P238S, E233P, L234V, L234F, L235E, P331S, S267E, L328F, D265A и P329G, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой Fc-домен IgG2 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены): V234A и G237A; H268Q, V309L, A330S и A331S; и/или V234A, G237A, P238S, H268A, V309L и A330S, пронумерованную (пронумерованные) в соответствии с системой нумерации Kabat EU. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой Fc-домен IgG2 или его фрагмент и содержит одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из группы, состоящей из V234A, G237A, H268Q, V309L, A330S, A331S, P238S, H268A и V309L, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой Fc-домен IgG4 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены): L235A, G237A и E318A; S228P, L234A и L235A; H268Q, V309L, A330S и P331S; и/или S228P и L235A, пронумерованную (пронумерованные) в соответствии с системой нумерации Kabat EU. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой Fc-домен IgG2 или его фрагмент и содержит одну или несколько аминокислотных замен, выбранных из группы, состоящей из L235A, G237A, E318A, S228P, L234A, H268Q, V309L, A330S и P331S, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

[342] В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, который содержит одну или несколько аминокислотных замен, усиливающих эффекторную функцию. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой Fc-домен IgG1 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

S298A, E333A и K334A; S239D и I332E; S239D, A330L и I332E; P247I и A339D или A339Q; D280H и K290S; D280H, K290S и либо S298D, либо S298V; F243L, R292P и Y300L; F243L, R292P, Y300L и P396L; F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L; G236A, S239D и I332E; K326A и E333A; K326W и E333S; K290E, S298G и T299A; K290E, S298G, T299A и K326E; K290N, S298G и T299A; K290N, S298G, T299A и K326E; K334V; L235S, S239D и K334V; K334V и Q331M, S239D, F243V, E294L или S298T; E233L, Q311M и K334V; L234I, Q311M и K334V; K334V и S298T, A330M или A330F; K334V, Q311M и либо A330M, либо A330F; K334V, S298T и либо A330M, либо A330F; K334V, S239D и либо A330M, либо S298T; L234Y, Y296W и K290Y, F243V или E294L; Y296W и либо L234Y, либо K290Y; S239D, A330S и I332E, V264I; F243L и V264I; L328M; I332E; L328M и I332E; V264I и I332E; S239E и I332E; S239Q и I332E; S239E; A330Y; I332D; L328I и I332E; L328Q и I332E; V264T; V240I; V266I; S239D; S239D и I332D; S239D и I332N; S239D и I332Q; S239E и I332D; S239E и I332N; S239E и I332Q; S239N и I332D; S239N и I332E; S239Q и I332D; A330Y и I332E; V264I, A330Y и I332E; A330L и I332E; V264I, A330L и I332E; L234E, L234Y или L234I; L235D, L235S, L235Y или L235I; S239T; V240M; V264Y; A330I; N325T; I332E и L328D, L328V, L328T или L328I; V264I, I332E и либо S239E, либо S239Q; S239E, V264I, A330Y и I332E; A330Y, I332E и либо S239D, либо S239N; A330L, I332E и либо S239D, либо S239N; V264I, S298A и I332E; S298A, I332E и либо S239D, либо S239N; S239D, V264I и I332E; S239D, V264I, S298A и I332E; S239D, V264I, A330L и I332E; S239D, I332E и A330I; P230A; P230A, E233D и I332E; E272Y; K274T, K274E, K274R, K274L или K274Y; F275W; N276L; Y278T; V302I; E318R; S324D, S324I или S324V; K326I или K326T; T335D, T335R или T335Y; V240I и V266I; S239D, A330Y, I332E и L234I; S239D, A330Y, I332E и L235D; S239D, A330Y, I332E и V240I; S239D, A330Y, I332E и V264T; и/или S239D, A330Y, I332E и либо K326E, либо K326T, пронумерованную (пронумерованные) в соответствии с системой нумерации Kabat EU. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой Fc-домен IgG1 или его фрагмент и содержит одну или несколько аминокислотных замены, выбранных из группы, состоящей из: P230A, E233D, L234E, L234Y, L234I, L235D, L235S, L235Y, L235I, S239D, S239E, S239N, S239Q, S239T, V240I, V240M, F243L, V264I, V264T, V264Y, V266I, E272Y, K274T, K274E, K274R, K274L, K274Y, F275W, N276L, Y278T, V302I, E318R, S324D, S324I, S324V, N325T, K326I, K326T, L328M, L328I, L328Q, L328D, L328V, L328T, A330Y, A330L, A330I, I332D, I332E, I332N, I332Q, T335D, T335R и T335Y.

[343] В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни содержит одну или несколько аминокислотных замен, которые усиливают связывание домена продления периода полужизни с FcRn. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько аминокислотных замен повышают аффинность связывания Fc-содержащего полипептида (например, полипептида тяжелой цепи или Fc-домена или его фрагмента) с FcRn при кислом значении pH. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни содержит одну или несколько аминокислотных замен,

выбранных из группы, состоящей из M428L; T250Q и M428L; M252Y, S254T и T256E; P257I и N434H; D376V и N434H; P257I и Q3111; N434A; N434W; M428L и N434S; V259I и V308F; M252Y, S254T и T256E; V259I, V308F и M428L; T307Q и N434A; T307Q и N434S; T307Q, E380A и N434A; V308P и N434A; N434H; и V308P.

[344] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин представляет собой димер, который образован доменом продления периода полужизни одной копии маскированного цитокина, образующим дисульфидную связь с соответствующим доменом продления периода полужизни второй копии маскированного цитокина.

2. Альбумин

[345] Альбумин (также называемый в настоящем документе человеческим сывороточным альбумином (HSA)) представляет собой природный белок-носитель, который имеет увеличенный период полужизни в сыворотке крови примерно до трех недель вследствие его размера и его восприимчивости к FcRn-опосредованной рециркуляции, что предупреждает внутриклеточное расщепление. Таким образом, связывание маскированного цитокина с альбумином может значительно увеличить период полужизни маскированного цитокина. Этот подход был использован для увеличения периода полужизни терапевтически пригодных белков в плазме крови. См., например, WO 2001/079271A1 и WO 2003/59934A2, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки. HSA в его зрелой форме представляет собой полипептид из 585 аминокислот, как представлено в SEQ ID NO: 171.

[346] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит домен продления периода полужизни, который содержит полипептид альбумина или его фрагмент или вариант (далее в настоящем документе называемый «альбумин» или «полипептид альбумина»). В контексте настоящего документа термины «альбумин» и «полипептид альбумина» включают фрагменты альбумина, а также варианты альбумина. Полипептид альбумина содержит аминоконец и карбоксиконец. Полипептид альбумина может представлять собой любой полипептид альбумина, включая любой его фрагмент или вариант, например любой полипептид альбумина, описанный в WO 2001/079271A1; WO 2003/59934A2; US20160152686A1; WO 2012/059486; WO 2011/124718; US20070048282, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина представляет собой HSA.

[347] В некоторых вариантах осуществления маскированного цитокина домен продления периода полужизни содержит полипептид альбумина. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит более одного полипептида альбумина, каждый из которых может представлять собой любой из полипептидов альбумина, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, каждый из которых содержит полипептид альбумина. Следует понимать, что ссылка на «полипептид альбумина» или «данный

полипептид альбумина» может относиться к полипептиду альбумина домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем один домен продления периода полужизни, или он может относиться к полипептиду альбумина первого домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, или он может относиться к полипептиду альбумина второго домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, или он может относиться к полипептиду альбумина первого домена продления периода полужизни и полипептиду альбумина второго домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащим первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни.

[348] В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина связан с маскирующим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида альбумина. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина связан с маскирующим фрагментом посредством линкера. В некоторых вариантах осуществления линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида альбумина. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен или C-концевой спейсерный домен линкера связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида альбумина. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид линкера связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида альбумина. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина связан с цитокином или его функциональным фрагментом. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида альбумина. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством линкера. В некоторых вариантах осуществления линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом полипептида альбумина.

[349] В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 171.

[350] В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина представляет собой вариант альбумина, состоящий из фрагмента HSA (необязательно с одной или несколькими аминокислотными модификациями). В некоторых вариантах осуществления фрагмент HSA представляет собой фрагмент HSA дикого типа. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит домен 1 HSA (аминокислотные остатки 1-194 SEQ ID NO: 171), домен 2 HSA (аминокислотные остатки 195-387 SEQ ID NO: 171),

домен 3 HSA (аминокислотный остаток 388-585), домены 1 и 2 HSA, домены 2 и 3 HSA, домены 1 и 3 HSA или две копии домена 3 HSA. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина состоит из домена 1 HSA (аминокислотные остатки 1-194 из SEQ ID NO: 171), домена HSA 2 (аминокислотные остатки 195-387 из SEQ ID NO: 171), домена HSA 3 (аминокислотные остатки 388-585), доменов HSA 1 и 2, доменов HSA 2 и 3, доменов 1 и 3 HSA или две копии домена 3 HSA.

[351] В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотные остатки 1-194 SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотные остатки 195-387 SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотные остатки 388-585 SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотные остатки 1-387 SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотные остатки 195-585 SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотные остатки 1-105 SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотные остатки 120-194 SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотные остатки 195-291 SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотные остатки 316-387 SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотные остатки 388-491 SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотные остатки 512-585 SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотные остатки 1-194 и 388-585 SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит две копии аминокислотных остатков 388-585 SEQ ID NO: 171.

[352] В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных модификаций аминокислотной последовательности любого из вариантов осуществления полипептида альбумина, описанного в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит аминокислотную последовательность, содержащую одну или несколько аминокислотных модификаций, которые повышают период полужизни полипептида альбумина в сыворотке крови. Иллюстративные аминокислотные модификации, которые повышают период полужизни полипептида альбумина в сыворотке крови, включают аминокислотные замены E492, N503, D550 и/или K573 HSA. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит одну или несколько аминокислотных модификаций, которые повышают аффинность полипептида альбумина в отношении FcRn-рецептора. Иллюстративные аминокислотные модификации, которые повышают аффинность полипептида альбумина в отношении FcRn-рецептора, включают V418M, T420A, E505G и V547A. В некоторых вариантах осуществления полипептид альбумина содержит

аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных модификаций аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления альбумин полипептида содержит аминокислотную последовательность, образуемую с помощью одной или нескольких аминокислотных модификаций аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 171. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько аминокислотных модификаций аминокислотной последовательности любого из полипептидов альбумина, описанных в настоящем документе, выбирают из группы, состоящей Q417A, H440Q, H464Q, A490D, E492G/T/P/H, V493P/L, D494N/Q/A/E/P, E495Q/A, T496A, P499A, K500E/G/D/A/S/C/P/H/F/N/W/T/M/Y/V/Q/L/I/R, E501A/P/Q, N503K/D/H, A504E, E505K/D, T506F/S, H510Q, H535Q, K536A, P537A, K538A/H, T540S, K541A/D/G/N/E, E542P/D, D550N, K573Y/W/P/H/F/V/I/T/N/S/G/M/C/A/E/Q/R/L/D, K574N, Q580K, L575F, A577T/E, A578R/S, S579C/T, Q580K, A581D, A582T и G584A. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько аминокислотных модификаций аминокислотной последовательности любого из полипептидов альбумина, описанных в настоящем документе, выбирают из группы, состоящей из V418M, T420A, E505G и V547A.

3. Связывающие белки

[353] Дополнительные стратегии для увеличения периода полужизни маскированных цитокинов в сыворотке крови включают связывание маскированного цитокина с определенными связывающими белками, такими как альбуминсвязывающие белки или IgG-связывающие белки. Связывающие белки могут представлять собой любой белок, который связывается с белком сыворотки крови, имеющим пролонгированный период полужизни, таким как альбумин или IgG. Альбумин и IgG представляют собой полипептиды, которые, как известно, имеют длительный период полужизни в сыворотке крови. Поскольку альбуминсвязывающие белки связываются или иным образом ассоциируются с альбумином в сыворотке крови, маскированные цитокины, которые связаны с альбуминсвязывающим белком, могут проявлять увеличенный период полужизни в сыворотке крови. Аналогичным образом, поскольку IgG-связывающие белки связываются или иным образом ассоциируются с IgG в сыворотке крови, маскированные цитокины, которые связаны с IgG-связывающим белком, могут проявлять увеличенный период полужизни в сыворотке крови.

[354] Альбуминсвязывающие белки и способы их связывания с белками, представляющими интерес, описаны, например, в WO 1991/01743, WO 2001/45746, WO 2002/076489, WO 2004/041865 или US20070269422A1, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

[355] В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни содержит альбуминсвязывающий белок. Альбуминсвязывающий белок может представлять собой любой из альбуминсвязывающих белков, описанных, например, в WO1991/01743, WO2001/45746, WO2002/076489, WO2004/041865, US20070269422A1; US20160152686A1; Dennis et al. (2002), JBC 277(38): 35035-35043.

[356] В некоторых вариантах осуществления маскированного цитокина домен продления периода полужизни содержит альбуминсвязывающий белок. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит более одного альбуминсвязывающего белка, каждый из которых может представлять собой любой из альбуминсвязывающих белков, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, каждый из которых содержит альбуминсвязывающий белок. Следует понимать, что ссылка на «альбуминсвязывающий белок» или «данный альбуминсвязывающий белок» может относиться к альбуминсвязывающему белку домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем один домен продления периода полужизни, или он может относиться к альбуминсвязывающему белку первого домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, или он может относиться к альбуминсвязывающему белку второго домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, или он может относиться к альбуминсвязывающему белку первого домена продления периода полужизни и альбуминсвязывающему белку второго домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащим первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни.

[357] В некоторых вариантах осуществления альбуминсвязывающий белок содержит альбуминсвязывающий домен (ABD) стрептококкового белка G (SPG). См., например, Nygren et al. J. Mol. Recogn. (1988) 1(2): 69-74. В некоторых вариантах осуществления альбуминсвязывающий белок содержит ABD штамма SPG G148. В некоторых вариантах реализации альбуминсвязывающий белок содержит С-концевой альбуминсвязывающий домен 3 (ABD3) штамма SPG G148. См., например, Nilvebrant and Hober (2013), Comput. Struct. Biotechnol. J., 6: e201303009. В некоторых вариантах осуществления альбуминсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 172. В некоторых вариантах осуществления альбуминсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 172.

[358] В некоторых вариантах осуществления альбуминсвязывающий белок содержит природный или синтетический пептид. В некоторых вариантах осуществления альбуминсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 173 или 174. В некоторых вариантах осуществления альбуминсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%,

96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 173 или 174.

[359] В некоторых вариантах осуществления альбуминсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких модификаций в аминокислотную последовательность альбуминсвязывающего домена, например, с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен, добавлений или делеций в аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 172-174.

[360] В некоторых вариантах осуществления альбуминсвязывающий белок представляет собой однодоменное антитело или его фрагмент, такой как нанотело, которое связывается с альбумином или иным образом ассоциируется с ним. *См., например*, WO 2004041865A2 и US20070269422A1, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 252-259. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 252-259.

[361] В некоторых вариантах осуществления альбуминсвязывающий белок связан с маскирующим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом альбуминсвязывающего белка. В некоторых вариантах осуществления альбуминсвязывающий белок связан с маскирующим фрагментом посредством линкера. В некоторых вариантах осуществления линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом альбуминсвязывающего белка. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен или C-концевой спейсерный домен линкера связан с аминоконцом или карбоксиконцом альбуминсвязывающего белка. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид линкера связан с аминоконцом или карбоксиконцом альбуминсвязывающего белка. В некоторых вариантах осуществления альбуминсвязывающий белок связан с цитокином или его функциональным фрагментом. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом альбуминсвязывающего белка. В некоторых вариантах осуществления альбуминсвязывающий белок связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством линкера. В некоторых вариантах осуществления линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом альбуминсвязывающего белка.

[362] Другим примером связывающего белка является IgG-связывающий белок. Сообщалось о IgG-связывающих белках. Для обзора IgG-связывающих белков, включая специфические IgG-связывающие белки, и пути их применения, *см., например*, Choe et al.

(2016) Materials 9 (12): 994, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

[363] В некоторых вариантах осуществления маскированного цитокина домен продления периода полужизни содержит IgG-связывающий белок. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит более одного IgG-связывающего белка, каждый из которых может представлять собой любой из IgG-связывающих белков, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, каждый из которых содержит IgG-связывающий белок. Следует понимать, что ссылка на «IgG-связывающий белок» или «данный IgG-связывающий белок» может относиться к IgG-связывающему белку домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем один домен продления периода полужизни, или он может относиться к IgG-связывающему белку первого домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, или он может относиться к IgG-связывающему белку второго домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, или он может относиться к IgG-связывающему белку первого домена продления периода полужизни и IgG-связывающему белку второго домена продления периода полужизни в маскированном цитокине, содержащем первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни.

[364] В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни содержит IgG-связывающий белок. IgG-связывающий белок может представлять собой любой IgG-связывающий белок. IgG-связывающий белок может представлять собой любой IgG-связывающий белок, описанный, например, в Choe et al. (2016) Materials 9(12): 994; US20140046037A1. Например, было продемонстрировано, что различные бактериальные белки связываются с IgG млекопитающих, включая белок A, G, L и Z, а также слитые белки белков LG и LA. См., например, Choe et al. (2016) Materials 9(12): 994. В некоторых вариантах осуществления IgG-связывающий белок представляет собой белок стафилококкового белка A (SpA) из бактерии *Staphylococcus aureus*, или его фрагмента или варианта. В некоторых вариантах осуществления IgG-связывающий домен представляет собой IgG-связывающий домен SpA или его фрагмент или вариант. В некоторых вариантах осуществления IgG-связывающий домен представляет собой один или несколько из SpA IgG-связывающих доменов E, D, A, B, C и Z или их фрагментов или вариантов.

[365] В некоторых вариантах осуществления IgG-связывающий домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 175-186. В некоторых вариантах осуществления IgG-связывающий белок содержит аминокислотную последовательность, имеющую приблизительно или по меньшей мере

приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 175-186.

[366] В некоторых вариантах осуществления IgG-связывающий домен содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких модификаций в аминокислотную последовательность IgG-связывающего домена, например, с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен, добавлений или делеций в аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 175-186.

[367] В некоторых вариантах осуществления IgG-связывающий белок связан с маскирующим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом IgG-связывающего белка. В некоторых вариантах осуществления IgG-связывающий белок связан с маскирующим фрагментом посредством линкера. В некоторых вариантах осуществления линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом IgG-связывающего белка. В некоторых вариантах осуществления N-концевой спейсерный домен или C-концевой спейсерный домен линкера связан с аминоконцом или карбоксиконцом IgG-связывающего белка. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид линкера связан с аминоконцом или карбоксиконцом IgG-связывающего белка. В некоторых вариантах осуществления IgG-связывающий белок связан с цитокином или его функциональным фрагментом. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент связан с аминоконцом или карбоксиконцом IgG-связывающего белка. В некоторых вариантах осуществления IgG-связывающий белок связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством линкера. В некоторых вариантах осуществления линкер связан с аминоконцом или карбоксиконцом IgG-связывающего белка.

4. Производные антител

[368] Маскированные цитокины, описанные в настоящем документе, могут быть в качестве альтернативы связаны с различными производными антител, включая, но не ограничиваясь ими, scFv, scFc, двойной вариабельный домен (DVD) и производные антител на основе подхода CrossMab. См., например, Klein et al. (2012), MAb, 4(6): 653-663; US20070071675A1. Производные антител включают производные антител, сконструированные в виде биспецифических антител или их фрагментов. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни может содержать любое его производное, вариант или продукт слияния антитела, включая, но не ограничиваясь ими, scFv, scFc, двухвариабельный домен (DVD), производные антител на основе подход CrossMab и биспецифические антитела или их фрагменты.

5. Полиаминокислотные последовательности

[369] Дополнительная стратегия для увеличения периода полужизни маскированных цитокинов в сыворотке крови заключается в связывании маскированного

цитокина с полиаминокислотной последовательностью. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни содержит полиаминокислотную последовательность. Полиаминокислотная последовательность может представлять собой любую полиаминокислотную последовательность, способную увеличивать период полужизни маскированного цитокина в сыворотке крови при его связывании с маскированным цитокином. Примеры полиаминокислотных последовательностей включают полипептиды PAS и полипептиды XTEN.

[370] В некоторых вариантах осуществления полиаминокислотная последовательность представляет собой полипептидную цепь, содержащую небольшие аминокислотные остатки пролина, аланина и необязательно серина (полипептид PAS). Последовательности PAS представляют собой гидрофильные и незаряженные полимеры, которые имеют биофизические свойства, аналогичные свойствам полиэтиленгликоля (ПЭГ), который обычно связывают с терапевтическими белками в качестве стратегии для увеличения периода полужизни терапевтического белка *in vivo*. *См., например*, Schlapschy et al. (2013) Protein Eng. Des. Sel., 26(8): 489-501; WO2008155134A1; WO2011144756A1; WO2016130451A1, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки. Было обнаружено, что присоединение полипептида PAS к терапевтическому белку увеличивает стабильность *in vivo* и/или *in vitro* по сравнению с терапевтическим белком в его нативном состоянии без присоединенного полипептида PAS. В некоторых вариантах осуществления полипептид PAS принимает конформацию случайного клубка. В некоторых вариантах осуществления полипептид PAS образует домен конформации случайного клубка.

[371] В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни содержит полипептид PAS, который содержит аминокислотные остатки пролин и аланин. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни содержит полипептид PAS, который содержит аминокислотные остатки пролин, аланин и серин. В некоторых вариантах осуществления полипептид PAS содержит по меньшей мере 25 аминокислотных остатков, по меньшей мере 50 аминокислотных остатков, по меньшей мере 100 аминокислотных остатков, по меньшей мере 150 аминокислотных остатков, по меньшей мере 200 аминокислотных остатков, по меньшей мере 250 аминокислотных остатков, по меньшей мере 300 аминокислотных остатков, по меньшей мере 400 аминокислотных остатков, по меньшей мере 500 аминокислотных остатков, по меньшей мере 600 аминокислотных остатков, по меньшей мере 700 аминокислотных остатков, по меньшей мере 800 аминокислотных остатков, по меньшей мере 900 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1000 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1100 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1200 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1300 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1500 аминокислотных остатков, по меньшей мере 2000 аминокислотных остатков, по меньшей мере 2500 аминокислотных остатков или по меньшей мере 3000 аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления полипептид PAS содержит по меньшей мере 25 аминокислотных остатков,

по меньшей мере 50 аминокислотных остатков, по меньшей мере 100 аминокислотных остатков, по меньшей мере 150 аминокислотных остатков, по меньшей мере 200 аминокислотных остатков, по меньшей мере 250 аминокислотных остатков, по меньшей мере 300 аминокислотных остатков, по меньшей мере 400 аминокислотных остатков, по меньшей мере 500 аминокислотных остатков, по меньшей мере 600 аминокислотных остатков, по меньшей мере 700 аминокислотных остатков, по меньшей мере 800 аминокислотных остатков, по меньшей мере 900 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1000 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1100 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1200 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1300 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1500 аминокислотных остатков, по меньшей мере 2000 аминокислотных остатков, по меньшей мере 2500 аминокислотных остатков или по меньшей мере 3000 аминокислотных остатков, при этом каждый аминокислотный остаток представляет собой пролин или аланин. В некоторых вариантах осуществления полипептид PAS содержит по меньшей мере 25 аминокислотных остатков, по меньшей мере 50 аминокислотных остатков, по меньшей мере 100 аминокислотных остатков, по меньшей мере 150 аминокислотных остатков, по меньшей мере 200 аминокислотных остатков, по меньшей мере 250 аминокислотных остатков, по меньшей мере 300 аминокислотных остатков, по меньшей мере 400 аминокислотных остатков, по меньшей мере 500 аминокислотных остатков, по меньшей мере 600 аминокислотных остатков, по меньшей мере 700 аминокислотных остатков, по меньшей мере 800 аминокислотных остатков, по меньшей мере 900 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1000 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1100 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1200 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1300 аминокислотных остатков, по меньшей мере 1500 аминокислотных остатков, по меньшей мере 2000 аминокислотных остатков, по меньшей мере 2500 аминокислотных остатков или по меньшей мере 3000 аминокислотных остатков, при этом каждый аминокислотный остаток представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из пролина, аланина и серина.

[372] В некоторых вариантах осуществления полиаминокислотная последовательность представляет собой удлиненный рекомбинантный полипептид (полипептид XTEN). Полипептиды XTEN представляют собой полипептиды с не встречающимися в природе, по сути неповторяющимися последовательностями, имеющими низкую степень вторичной или третичной структуры или не имеющие ее в физиологических условиях. Полипептиды XTEN обычно имеют от приблизительно 36 до приблизительно 3000 аминокислотных остатков, большинство из которых большинство или все полностью представляют собой небольшие гидрофильные аминокислоты (например, аргинин, лизин, треонин, аланин, аспарагин, глутамин, аспартат, глутамат, серин и глицин). Физико-химические свойства, а также неструктурированная характеристика полипептидов XTEN являются результатом, отчасти, общего аминокислотного состава, который непропорционально ограничен 4-6 типами гидрофильных аминокислот, связывания аминокислот в неповторяющийся дизайн и

длины полипептида XTEN. Было обнаружено, что присоединение полипептида XTEN к терапевтическому белку улучшает растворимость и стабильность, а также увеличивает время полужизни терапевтического белка. См., например, Podust et al. (2016) J. Controlled Release, 240: 52-66; WO2013130683A2, содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

[373] В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни содержит полипептид XTEN, который содержит аминокислотную последовательность, состоящую из четырех, пяти или шести типов аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из глицина (G), аланина (A), серин (S), треонина (T), глутамата (E) и пролина (P).

[374] В некоторых вариантах осуществления полипептид XTEN содержит аминокислотную последовательность от приблизительно 25 до приблизительно 500 аминокислотных остатков, от приблизительно 200 до приблизительно 1000 аминокислотных остатков, от приблизительно 500 до приблизительно 1500 аминокислотных остатков, от приблизительно 1000 до приблизительно 2000 аминокислотных остатков или от приблизительно 1500 до приблизительно 3000 аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 70%, 75%, 80% или 85% аминокислотной последовательности состоит из неперекрывающихся мотивов последовательности. В некоторых вариантах осуществления каждый из мотивов содержит от 5 до 100 аминокислотных остатков, от 5 до 50 аминокислотных остатков или от 9 до 36 аминокислотных остатков, и при этом по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, минимум 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% каждого из мотивов состоит из четырех, пяти или шести типов аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из глицина (G), аланина (A), серина (S), треонина (T), глутамата (E) и пролина (P). В некоторых вариантах осуществления содержание любого типа аминокислоты в полноразмерном полипептиде XTEN не превышает приблизительно 40%, приблизительно 35%, приблизительно 30%, приблизительно 25%, приблизительно 15%, приблизительно 10% или приблизительно 8%.

[375] В некоторых вариантах осуществления полипептид XTEN содержит аминокислотную последовательность от приблизительно 25 до приблизительно 500 аминокислотных остатков, от приблизительно 200 до приблизительно 1000 аминокислотных остатков, от приблизительно 500 до приблизительно 1500 аминокислотных остатков, от приблизительно 1000 до приблизительно 2000 аминокислотных остатков или от приблизительно 1500 до приблизительно 3000 аминокислотных остатков, при этом по меньшей мере приблизительно 80% аминокислотной последовательности состоит из неперекрывающихся мотивов последовательности, при этом каждый из мотивов имеет от 9 до 36 аминокислотных остатков и при этом 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%, по меньшей мере 99% или 100% каждого из мотивов состоит четырех, пяти или шести типов аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из глицина (G), аланина (A), серина (S), треонина (T), глутамата (E) и пролина (P), и при этом содержание одного типа аминокислот в полноразмерном полипептиде ХТЕН не превышает приблизительно 40%, приблизительно 35%, приблизительно 30%, приблизительно 25%, приблизительно 15%, приблизительно 10% или приблизительно 8%.

6. ПЭГилирование и гликозилирование

[376] Дополнительные стратегии увеличения периода полужизни маскированных цитокинов, предложенные в настоящем документе, включают ПЭГилирование и конструирование дополнительных сайтов гликозилирования. Каждая из этих стратегий более подробно обсуждается ниже.

[377] «ПЭГилирование» относится к процессу ковалентного или нековалентного присоединения или слияния полимерных цепей полиэтиленгликоля (ПЭГ) с молекулами и макроструктурами, такими как лекарственное средство, терапевтический белок, полипептид, антитело, фрагмент антитела, производное антитела, или с любым из маскированных цитокинов или их компонентов, предложенных в настоящем документе (например, доменом продления периода полужизни маскированного цитокина и/или цитокина или его функционального фрагмента маскированного цитокина). Преимущества ПЭГилирования включают, например, (1) заметно улучшенное время полужизни в кровотоке *in vivo* вследствие ускользания от почечного клиренса в результате того, что полимер увеличивает кажущийся размер молекулы выше предела клубочковой фильтрации, и/или за счет ускользания от механизмов клеточного клиренса, (2) снижение антигенности и иммуногенности молекулы, к которой присоединен ПЭГ, (3) улучшенную фармакокинетику, (4) улучшенную растворимость, (5) улучшенные варианты составления и дозирования, (6) улучшенную биодоступность за счет снижения потерь в местах подкожных инъекций, (7) улучшение термической и механической стабильности ПЭГилированной молекулы.

[378] Способы ПЭГилирования различных молекул и макроструктур хорошо известны в данной области техники. См., например, US20140256636A1; Fee and Damodaran (2010) *European Pharmaceutical Review*, 15(1): 18-26; Chapman et al. (1999) *Nature Biotechnol.*, 17: 780-783; Yang et al. (2003), *Protein Eng.*, 16(10): 761-770; Chapman, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* (2002), 54(4): 531-545, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

[379] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин любого из вариантов осуществления является ПЭГилированным. Например, в некоторых вариантах осуществления это достигается путем функционализации ПЭГ с помощью группоспецифичных реагентов таким образом, что конъюгация ПЭГ с белком (например, доменом продления периода полужизни, или цитокином или его функциональным

фрагментом) может быть нацелена на специфические группы боковой цепи белка, такие как аминокислотные группы, карбоксильные, сульфгидрильные или гуанидиновые группы. В некоторых вариантах осуществления остатки цистеина (C) вводят путем аминокислотной замены в белок (например, домен продления периода полужизни, или цитокин или его функциональный фрагмент) сайт-специфическим образом. Затем тиоловые группы вновь введенных остатков цистеина могут быть нацелены на ПЭГилирование с использованием реагентов для ПЭГ на основе химии малемидов. Замена серина (S) или треонина (T) цистеином имеет преимущество в том, что чистый заряд модифицированного белка не изменяется в результате ПЭГилирования. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления компонент маскированного цитокина, такой как любой из цитокинов или их функциональных фрагментов и/или любой из доменов продления периода полужизни, может быть модифицирован или дополнительно модифицирован с помощью введения остатков цистеина для ПЭГилирования.

[380] «Гликозилирование» относится к добавлению сахаридов или гликозильных групп к полипептиду. Гликозилирование полипептидов обычно является либо N-связанным, либо O-связанным. N-связанный относится к присоединению углеводного фрагмента к боковой цепи остатка аспарагина. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин (N-X-S) и аспарагин-X-треонин (N-X-T), при этом X представляет собой любую аминокислоту, кроме пролина (P), представляют собой последовательности распознавания для ферментативного присоединения углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагина. Таким образом, присутствие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде образует потенциальный сайт гликозилирования. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров (например, N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы) к гидроксикампионной кислоте, чаще всего серину или треонину, хотя также можно использовать 5-гидроксипролин или 5-гидроксизин.

[381] Было продемонстрировано, что встречающееся в природе гликозилирование увеличивает молекулярную стабильность белков. См., например, Sola et al. (2007), Cell. Mol. Life Sci., 64(16): 2133-2152. Также было продемонстрировано, что образование дополнительных сайтов гликозилирования может стабилизировать множество терапевтических белков в отношении большинства основных физико-химических нестабильностей. См., например, Sola and Griebenow (2009), J. Pharm. Sci., 98(4): 1223-1245. Среди фармацевтически значимых нестабильностей белка, которые, как было продемонстрировано, улучшаются в результате гликозилирования, входят, например, окисление; сшивание; денатурация/разворачивание, вызванные pH, химическими, термическими и температурными воздействиями и охлаждением; осаждение; кинетическая активация; и агрегация. Там же.

[382] Добавление сайтов гликозилирования к маскированному цитокину обычно осуществляется с помощью изменения аминокислотной последовательности таким образом, что одна или несколько из описанных выше трипептидных последовательностей

(для сайтов N-связанного гликозилирования) образуются в аминокислотной последовательности маскированного цитокина (например в аминокислотной последовательности домена продления периода полужизни и/или цитокина или его функционального фрагмента). Изменение также может быть выполнено с помощью добавления или замены одного или нескольких остатков серина или треонина в аминокислотной последовательности маскированного цитокина (например в аминокислотной последовательности домена продления периода полужизни и/или цитокина или его функционального фрагмента) (для сайтов O-связанного гликозилирования).

[383] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин любого из вариантов осуществления модифицирован или дополнительно модифицирован с помощью изменения аминокислотной последовательности маскированного цитокина (например аминокислотной последовательности домена продления периода полужизни и/или цитокина или его функционального фрагмента) таким образом, что одна или несколько дополнительных трипептидных последовательностей N-X-S и/или N-X-T вводят в аминокислотную последовательность маскированного цитокина или его компонента (для добавления одного или нескольких сайтов N-связанного гликозилирования). В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин любого из вариантов осуществления модифицирован или дополнительно модифицирован с помощью изменения аминокислотной последовательности маскированного цитокина или его компонента (например аминокислотной последовательности домена продления периода полужизни и/или цитокина или его функционального фрагмента) таким образом, что один или несколько дополнительных остатков серина или треонина вводят в аминокислотную последовательность маскированного цитокина или его компонента (для добавления одного или нескольких сайтов O-связанного гликозилирования). В некоторых вариантах осуществления изменение аминокислотной последовательности для добавления одного или нескольких сайтов N-связанного гликозилирования и/или для добавления одного или нескольких сайтов O-связанного гликозилирования осуществляется с помощью добавления одной или нескольких аминокислот к аминокислотной последовательности маскированного цитокина или его компонента. В некоторых вариантах осуществления изменение аминокислотной последовательности для добавления одного или нескольких сайтов N-связанного гликозилирования и/или для добавления одного или нескольких сайтов O-связанного гликозилирования осуществляется с помощью замены одной или нескольких аминокислот в аминокислотной последовательности маскированного цитокина или его компонента. В некоторых вариантах осуществления изменение аминокислотной последовательности для добавления одного или нескольких сайтов N-связанного гликозилирования и/или для добавления одного или нескольких сайтов O-связанного гликозилирования осуществляется с помощью добавления одной или нескольких аминокислот к аминокислотной последовательности и с помощью замены одной или нескольких аминокислот в аминокислотной последовательности

маскированного цитокина или его компонента.

7. Модификации гетеродимеризации

[384] Домены продления периода полужизни могут содержать одну или несколько модификаций, которые способствуют гетеродимеризации двух различных доменов продления периода полужизни. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, желательно способствовать гетеродимеризации первого и второго доменов продления периода полужизни таким образом, чтобы эффективно получать маскированный цитокин в его правильной гетеродимерной форме. Таким образом, одна или несколько аминокислотных модификаций могут быть выполнены в первом домене продления периода полужизни, и одна или несколько аминокислотных модификаций могут быть выполнены во втором домене продления периода полужизни с использованием любой стратегии, доступной в данной области техники, включая любую стратегию, описанную в работе Klein et al. (2012), MAbs, 4(6): 653-663. Иллюстративные стратегии и модификации подробно описаны ниже.

Подход на основе «выступов во впадины»

[385] Одной из стратегий, способствующих гетеродимеризации двух различных доменов продления периода полужизни, является подход, названный «выступы во впадины».

[386] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, каждый из которых содержит СНЗ-домен. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни, содержащий СНЗ-домен, представляет собой полипептид тяжелой цепи или его фрагмент (например Fc-домен или его фрагмент). СНЗ-домены двух доменов продления периода полужизни могут быть изменены с помощью технологии «выступы во впадины», которая подробно описана в связи с несколькими примерами, *например*, в WO 1996/027011; Ridgway, J.B. et al., Protein Eng. (1996) 9(7): 617-621; Merchant, A.M., et al., Nat. Biotechnol. (1998) 16(7): 677-681. *См. также* Klein et al. (2012), MAbs, 4(6): 653-663. С помощью способа «выступы во впадины», поверхности взаимодействия двух СНЗ-доменов изменяют для увеличения гетеродимеризации двух доменов продления периода полужизни, содержащих два измененных СНЗ-домена. Это происходит с помощью введения объемного остатка в СНЗ-домен одного из доменов продления периода полужизни, который выступает в качестве «выступа». Кроме того, для размещения объемного остатка, в другом домене продления периода полужизни образуется «впадина», которая может вмещать выступ. Один из измененных СНЗ-доменов может представлять собой «выступ», в то время как другой может представлять собой «впадину». Введение дисульфидного мостика дополнительно стабилизирует гетеродимеры (Merchant, A.M., et al., Nat. Biotechnol. (1998) 16(7); Atwell, S., et al., J. Mol. Biol. (1997) 270(1): 26-35), а также повышает выход.

[387] Сообщалось, что выход гетеродимеризации выше 97% может быть достигнут

с помощью введения мутаций S354C и T366W в тяжелую цепь для образования «выступа» и с помощью введения мутаций Y349C, T366S, L368A и Y407V в тяжелую цепь для образования «впадины» (нумерация остатков в соответствии с системой нумерации Kabat EU). Carter et al. (2001), *J. Immunol. Methods*, 248: 7-15; Klein et al. (2012), *MAbs*, 4(6): 653-663.

[388] В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит полипептид тяжелой цепи или его часть (например Fc-домен или его фрагмент), который содержит одну или несколько аминокислотных мутаций, которые образуют «выступ», и второй домен продления периода полужизни содержит полипептид тяжелой цепи или его часть (например Fc-домен или его фрагмент), который содержит одну или несколько аминокислотных мутаций, которые образуют «впадину». В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит полипептид тяжелой цепи или его часть (например Fc-домен или его фрагмент), который содержит одну или несколько аминокислотных мутаций, которые образуют «впадину», а второй домен продления периода полужизни содержит полипептид тяжелой цепи или его часть (например Fc-домен или его фрагмент), который содержит одну или несколько аминокислотных мутаций, которые образуют «выступ». Способы введения впадины или выступа в полипептиде тяжелой цепи или его части (например, в Fc-доме или его фрагменте) известны в данной области техники, например в WO 1996/027011; Ridgway, J.V. et al., *Protein Eng.* (1996) 9(7): 617-621; Merchant, A.M., et al., *Nat. Biotechnol.* (1998) 16(7): 677-681; Klein et al. (2012), *MAbs*, 4(6): 653-663.

[389] В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит полипептид тяжелой цепи или его часть (например Fc-домен или его фрагмент), который содержит аминокислотные мутации S354C и T366W (пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU), и второй домен продления периода полужизни содержит полипептид тяжелой цепи или его часть (например, Fc-домен или его фрагмент), который содержит аминокислотные мутации Y349C, T366S, L368A и Y407V (пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU). В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит полипептид тяжелой цепи или его часть (например Fc-домен или его фрагмент), который содержит аминокислотные мутации Y349C, T366S, L368A и Y407V (пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU), и второй домен продления периода полужизни содержит полипептид тяжелой цепи или его часть (например, Fc-домен или его фрагмент), который содержит аминокислотные мутации S354C и T366W (пронумерованные в соответствии с системой

нумерации Kabat EU). В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и второй домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 265, и второй домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 265. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и второй домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй домен продления периода полужизни содержит Fc-домен или его фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155.

[390] Дополнительные примеры замен, которые могут быть выполнены для образования выступов и впадин, включают те, которые описаны в US 20140302037 A1, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки. Например, в некоторых вариантах осуществления любая из следующих аминокислотных замен может быть выполнена в первом домене продления периода полужизни («первый домен») и парном втором домене продления периода полужизни («второй домен»), каждый из которых содержит Fc-домен: (a) Y407T в первом домене и T366Y во втором домене; (b) Y407A в первом домене и T366W во втором домене; (c) F405A в первом домене и T394W

во втором домене; (d) F405W в первом домене и T394S во втором домене; (e) Y407T в первом домене и T366Y во втором домене; (f) T366Y и F405A в первом домене и T394W и Y407T во втором домене; (g) T366W и F405W в первом домене и T394S и Y407A во втором домене; (h) F405W и Y407A в первом домене и T366W и T394S во втором домене; или (i) T366W в первом домене и T366S, L368A и Y407V во втором домене, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

[391] В некоторых вариантах осуществления любая из следующих аминокислотных замен может быть выполнена в первом домене продления периода полужизни («первый домен») и парном втором домене продления периода полужизни («второй домен»), каждый из которых содержит Fc-домен: (a) Y407T во втором домене и T366Y в первом домене; (b) Y407A во втором домене и T366W в первом домене; (c) F405A во втором домене и T394W в первом домене; (d) F405W во втором домене и T394S в первом домене; (e) Y407T во втором домене и T366Y в первом домене; (f) T366Y и F405A во втором домене и T394W и Y407T в первом домене; (g) T366W и F405W во втором домене и T394S и Y407A в первом домене; (h) F405W и Y407A во втором домене и T366W и T394S в первом домене; или (i) T366W во втором домене и T366S, L368A и Y407V в первом домене, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

[392] В вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, каждый из которых содержит Fc-домен, любые из гетеродимеризующих изменений, описанных в настоящем документе, могут быть использованы в Fc-доменах для стимулирования гетеродимеризации любого из маскированных цитокинов, описанных в настоящем документе. Например, любое из изменений гетеродимеризации, описанных в настоящем документе, включая их комбинации, можно использовать для изменения аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 154-156, 158, 168, 169, 265, 616, 619, 622, 625, 721, 772-774, 793 и 796.

Ионные/электростатические взаимодействия

[393] Другая стратегия стимулирования гетеродимеризации двух различных доменов продления периода полужизни заключается в стабилизации ионных взаимодействий, которые способствуют гетеродимеризации посредством изменения заряженных остатков.

[394] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин содержит первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, каждый из которых содержит СНЗ-домен. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни, содержащий СНЗ-домен, представляет собой полипептид тяжелой цепи или его фрагмент (например Fc-домен или его фрагмент). Было замечено, что изменение полярностей зарядов между двумя различными Fc-доменами может приводить к ионным взаимодействиям таким образом, что гетеродимеризация является предпочтительной, тогда как гомодимеризация

подавляется. См., например, WO 2006/106905A1; Gunasekaran et al. (2010) 285(25): 19637-19646. Например, было замечено, что отрицательно заряженная E356 Fc-домена соединяется с положительно заряженным K439 другого Fc-домена, отрицательно заряженные E357, E357 и D399 первого Fc-домена соединяются с положительно заряженными K439, K370 и K409 соответственно второго Fc-домена. См. WO 2006/106905A1; Gunasekaran et al. (2010) 285(25): 19637-19646. Таким образом, с помощью введения по меньшей мере двух мутаций E356K, E357K и D399K в первый Fc-домен и мутаций K370E, K409D и K439E во второй Fc-домен, может быть достигнута эффективная гетеродимеризация при подавлении образования гомодимера. Там же. Эффективная гетеродимеризация была достигнута с помощью введения мутаций K392D и K409D в первую цепь Fc и с помощью введения мутаций D399K и E356K во вторую цепь Fc. Gunasekaran et al. (2010) 285(25): 19637-19646.

[395] Дополнительные примеры замен, которые могут быть выполнены для заряженных пар аминокислот, включают замены, описанные в US 20140302037 A1, содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки. Например, в некоторых вариантах осуществления любая из следующих аминокислотных замен может быть выполнена в первом домене продления периода полужизни («первый домен») и парном втором домене продления периода полужизни («второй домен»), каждый из которых содержит Fc-домен: (a) K409E в первом домене и D399K во втором домене; (b) K409E в первом домене и D399R во втором домене; (c) K409D в первом домене и D399K во втором домене; (d) K409D в первом домене и D399R во втором домене; (e) K392E в первом домене и D399R во втором домене; (f) K392E в первом домене и D399K во втором домене; (g) K392D в первом домене и D399R во втором домене; (h) K392D в первом домене и D399K во втором домене; (i) K409D и K360D в первом домене и D399K и E356K во втором домене; (j) K409D и K370D в первом домене и D399K и E357K во втором домене; (k) K409D и K392D в первом домене и D399K, E356K и E357K во втором домене; (l) K409D и K392D в первом домене и D399K во втором домене; (m) K409D и K392D в первом домене и D399K и E356K во втором домене; (n) K409D и K392D в первом домене и D399K и E357K во втором домене; (o) K409D и K370D в первом домене и D399K и D357K во втором домене; (p) D399K в первом домене и K409D и K360D во втором домене; и/или (q) K409D и K439D в первом домене и D399K и E356K во втором домене, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

[396] В некоторых вариантах осуществления любая из следующих аминокислотных замен может быть выполнена в первом домене продления периода полужизни («первый домен») и парном втором домене продления периода полужизни («второй домен»), каждый из которых содержит Fc-домен: (a) K409E во втором домене и D399K в первом домене; (b) K409E во втором домене и D399R в первом домене; (c) K409D во втором домене и D399K в первом домене; (d) K409D во втором домене и D399R в первом домене; (e) K392E во втором домене и D399R в первом домене; (f) K392E во втором домене и D399K в первом домене; (g) K392D во втором домене и D399R в первом

домене; (h) K392D во втором домене и D399K в первом домене; (i) K409D и K360D во втором домене и D399K и E356K в первом домене; (j) K409D и K370D во втором домене и D399K и E357K в первом домене; (k) K409D и K392D во втором домене и D399K, E356K и E357K в первом домене; (l) K409D и K392D во втором домене и D399K в первом домене; (m) K409D и K392D во втором домене и D399K и E356K в первом домене; (n) K409D и K392D во втором домене и D399K и E357K в первом домене; (o) K409D и K370D во втором домене и D399K и E357K в первом домене; (p) D399K во втором домене и K409D и K360D в первом домене; и/или (q) K409D и K439D во втором домене и D399K и E356K в первом домене, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

[397] В некоторых вариантах осуществления любая из следующих аминокислотных замен может быть выполнена в первом домене продления периода полужизни («первый домен») и парном втором домене продления периода полужизни («второй домен»), каждый из которых содержит Fc-домен: (a) K409D или K409E в первом домене и D399K или D399R во втором домене; (b) K392D или K392E в первом домене и D399K или D399R во втором домене; (c) K439D или K439E в первом домене и E356K или E356R во втором домене; и/или (d) K370D или K370E в первом домене и E357K или E357R во втором домене, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

[398] В некоторых вариантах осуществления любая из следующих аминокислотных замен может быть выполнена в первом домене продления периода полужизни («первый домен») и парном втором домене продления периода полужизни («второй домен»), каждый из которых содержит Fc-домен: (a) K409D или K409E во втором домене и D399K или D399R в первом домене; (b) K392D или K392E во втором домене и D399K или D399R в первом домене; (c) K439D или K439E во втором домене и E356K или E356R в первом домене; и/или (d) K370D или K370E во втором домене и E357K или E357R в первом домене, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

[399] В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, каждый из которых содержит Fc-домен, одна или несколько из следующих замен могут быть дополнительно включены как в первый домен продления периода полужизни, так и во второй домен продления периода полужизни для стабилизации гетеродимеров: R355D, R355E, K360D и K360R.

[400] В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит полипептид тяжелой цепи или его часть (например, Fc-домен или его фрагмент), который содержит одну или несколько мутаций, которые способствуют стабилизации ионных взаимодействий со вторым доменом продления периода полужизни при подавлении гомодимеризации, и второй домен продления периода полужизни содержит одну или несколько мутаций, которые

способствуют стабилизации ионных взаимодействий с первым доменом продления периода полужизни при подавлении гомодимеризации.

[401] В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, первый домен продления периода полужизни содержит полипептид тяжелой цепи или его часть (например Fc-домен или его фрагмент), который содержит аминокислотные мутации K392D и K409D (пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU), и второй домен продления периода полужизни содержит полипептид тяжелой цепи или его часть (например, Fc-домен или его фрагмент), который содержит аминокислотные мутации D399K и E356K (пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU).

[402] В вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, каждый из которых содержит Fc-домен, любые из гетеродимеризующих изменений, описанных в настоящем документе, могут быть использованы в Fc-доменах для стимулирования гетеродимеризации любого из маскированных цитокинов, описанных в настоящем документе. Например, любое из изменений гетеродимеризации, описанных в настоящем документе, включая их комбинации, можно использовать для изменения аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 154-156, 158, 168, 169, 265, 616, 619, 622, 625, 721, 772-774, 793 и 796.

Структурные подходы и подходы на основе последовательностей

[403] Другая стратегия стимулирования гетеродимеризации двух разных доменов продления периода полужизни заключается в использовании структурных подходов и подходов на основе последовательностей для идентификации изменений, которые могут способствовать гетеродимеризации и/или подавлять гомодимеризацию.

[404] Среди способов идентификации изменений, которые способствуют гетеродимеризации, имеет место выполнение структурных расчетов для определения энергий парных комбинаций вариантов для остатков, которые взаимодействуют посредством границы раздела димера СНЗ-СНЗ, как это было выполнено в подходе, принятом в Moore et al. (2011) 3(6): 546-557, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки. Moore et al. идентифицировали пары, которые, как было предсказано, имели более низкую энергию в форме гетеродимера по сравнению с формой гомодимера, в качестве отправной точки для дальнейшего анализа. Было замечено, что выход гетеродимеризации 89% может быть достигнут с помощью введения мутаций S364H и F405A в первый Fc-домен и с помощью введения мутаций Y349T и T394F во второй Fc-домен. *Там же.*

[405] В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, каждый из которых содержит Fc-домен, первый домен продления периода полужизни содержит аминокислотные мутации S364H и F405A, и второй домен продления периода полужизни

содержит аминокислотные мутации Y349T и T394F, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU. В некоторых вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, каждый из которых содержит Fc-домен, второй домен продления периода полужизни содержит аминокислотные мутации S364H и F405A, и первый домен продления периода полужизни содержит аминокислотные мутации Y349T и T394F, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

[406] В вариантах осуществления, содержащих первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни, каждый из которых содержит Fc-домен, любые из гетеродимеризующих изменений, описанных в настоящем документе, могут быть использованы в Fc-доменах для стимулирования гетеродимеризации любого из маскированных цитокинов, описанных в настоящем документе. Например, любое из изменений гетеродимеризации, описанных в настоящем документе, включая их комбинации, можно использовать для изменения аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 154-156, 158, 168, 169, 265, 616, 619, 622, 625, 721, 772-774, 793 и 796.

Анализы связывания

[407] Может быть выражена сила или аффинность иммунологических связывающих взаимодействий, например, между цитокином или его функциональным фрагментом и партнером по связыванию (например целевым белком, таким как цитокиновый рецептор), для которого цитокин или его функциональный фрагмент является специфичным с точки зрения константы диссоциации (K_d) взаимодействия, при этом меньшее значение K_d представляет более высокую аффинность. Например, связывание цитокина IL-2 с цитокиновым рецептором IL-2R (например IL-2R или его компонентом, таким как IL-2R α , IL-2R β , IL-2R γ или их комбинации), можно выразить посредством K_d . В некоторых вариантах осуществления иммунологические связывающие взаимодействия происходят между маскированным цитокином (в присутствии или в отсутствие протеазы) и целевым белком, таким как цитокиновый рецептор. В контексте связывания цитокинов IL-2 целевой белок может представлять собой IL-2R (содержащий цепи IL-2R α , IL-2R β и IL-2R γ), цепь IL-2R α , цепь IL-2R β или димерный комплекс IL-2R α/β . Иммунологические связывающие свойства белков можно количественно оценить с использованием способов, хорошо известных в данной области техники. Например, один способ включает измерение скоростей образования и диссоциации комплекса цитокиновый рецептор (например IL-2R)/цитокин (например IL-2), при этом эти скорости зависят от концентраций компонентов комплекса, аффинности взаимодействия, и геометрических параметров, которые одинаково влияют на скорость в обоих направлениях. Как «константа скорости ассоциации» (K_{on}), так и «константа скорости диссоциации» (K_{off}) могут быть определены путем расчета концентраций и фактических скоростей ассоциации и диссоциации. Отношение K_{off}/K_{on} позволяет исключить все параметры, не связанные с аффинностью, и оно равняется константе диссоциации K_d . См.

Davies et al., Annual Rev Biochem. 59:439-473, (1990).

[408] В некоторых аспектах маскированный цитокин, описанный в настоящем документе, связывается с целевым белком приблизительно с такой же или более высокой аффинностью при расщеплении протеазой по сравнению с исходным цитокином, который содержит маскирующий фрагмент, но не содержит расщепляемого пептида. Целевой белок может представлять собой любой цитокиновый рецептор. В некоторых вариантах осуществления целевой белок представляет собой IL-2R (содержащий цепи IL-2R α , IL-2R β и IL-2R γ). В некоторых вариантах осуществления целевой белок представляет собой IL-2R α . В некоторых вариантах осуществления целевой белок представляет собой IL-2R β . В некоторых вариантах осуществления целевой белок представляет собой димерный комплекс IL-2R α/β . В некоторых вариантах осуществления целевой белок представляет собой IL-15R (содержащий цепи IL-15R α , IL-2R β и IL-2R γ) или его компонент, такой как IL-15R α , IL-2R β или IL-2R γ , или их комбинацию.

[409] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, предложенный в настоящем документе, который не содержит расщепляемого пептида в линкере, имеет константу диссоциации в отношении целевого белка (K_d) ≤ 1 мкМ, ≤ 150 нМ, ≤ 100 нМ, ≤ 50 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ, $\leq 0,1$ нМ, $\leq 0,01$ нМ или $\leq 0,001$ нМ (например 10^{-8} М или менее, например от 10^{-8} М до 10^{-13} М, например от 10^{-9} М до 10^{-13} М). В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, предложенный в настоящем документе, который содержит расщепляемый пептид в линкере, имеет константу диссоциации в отношении целевого белка до расщепления протеазой (K_d) ≤ 1 мкМ, ≤ 150 нМ, ≤ 100 нМ, ≤ 50 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ, $\leq 0,1$ нМ, $\leq 0,01$ нМ или $\leq 0,001$ нМ (например 10^{-8} М или менее, например от 10^{-8} М до 10^{-13} М, например от 10^{-9} М до 10^{-13} М). В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, предложенный в настоящем документе, который содержит расщепляемый пептид в линкере, имеет константу диссоциации в отношении целевого белка при расщеплении протеазой (K_d) ≤ 1 мкМ, ≤ 150 нМ, ≤ 100 нМ, ≤ 50 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ, $\leq 0,1$ нМ, $\leq 0,01$ нМ или $\leq 0,001$ нМ (например 10^{-8} М или менее, например от 10^{-8} М до 10^{-13} М, например от 10^{-9} М до 10^{-13} М). В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент маскированного цитокина, предложенного в настоящем документе, имеет константу диссоциации в отношении маскирующего фрагмента маскированного пептида (K_d) ≥ 500 мкМ, ≥ 250 мкМ, ≥ 200 мкМ, ≥ 150 мкМ, ≥ 100 мкМ, ≥ 50 мкМ, ≥ 10 мкМ, ≥ 1 мкМ, ≥ 500 нМ, ≥ 250 нМ, ≥ 150 нМ, ≥ 100 нМ, ≥ 50 нМ, ≥ 10 нМ, ≥ 1 нМ, $\geq 0,1$ нМ, $\geq 0,01$ нМ или $\geq 0,001$ нМ. В некоторых вариантах осуществления цитокин или его функциональный фрагмент маскированного цитокина, предложенный в настоящем документе, имеет константу диссоциации (K_d), которая составляет от приблизительно 200 мкМ до приблизительно 50 нМ, например приблизительно или по меньшей мере приблизительно 175 мкМ, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 150 мкМ, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 125 мкМ, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 100 мкМ, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 75 мкМ,

приблизительно или по меньшей мере приблизительно 50 мкм, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 25 мкм, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 5 мкм, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 1 мкм, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 750 нМ, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 500 нМ, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 250 нМ, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 150 нМ, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 100 нМ, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 75 нМ или приблизительно или по меньшей мере приблизительно 50 нМ. Анализы для оценки аффинности связывания хорошо известны в данной области техники.

[410] В некоторых аспектах предусмотрены маскированные цитокины, которые демонстрируют необходимый коэффициент окклюзии. Термин «коэффициент окклюзии» относится к соотношению (а) максимального обнаружимого уровня параметра при первом наборе условий к (b) минимальному обнаружимому значению этого параметра при втором наборе условий. Например, в контексте маскированного полипептида IL-2 коэффициент окклюзии относится к соотношению (а) максимального обнаружимого уровня связывания целевого белка (например белка IL-2R) с маскированным полипептидом IL-2 в присутствии по меньшей мере одной протеазы, способной расщеплять расщепляемый пептид маскированного полипептида IL-2, к (b) минимально обнаружимому уровню связывания целевого белка (например белка IL-2R) с маскированным полипептидом IL-2 в отсутствие протеазы. Таким образом, коэффициент окклюзии для маскированного цитокина может быть рассчитан путем деления EC50 маскированного цитокина до расщепления на EC50 маскированного цитокина после расщепления. Коэффициент окклюзии маскированного цитокина также можно рассчитать как соотношение константы диссоциации маскированного цитокина до расщепления протеазой к константе диссоциации маскированного цитокина после расщепления протеазой. В некоторых вариантах осуществления более высокий коэффициент окклюзии для маскированного цитокина указывает на то, что целевой белок, связанный маскированным цитокином, возникает в большей степени (например, преимущественно происходит) в присутствии протеазы, способной расщеплять расщепляемый пептид маскированного цитокина, чем в отсутствие протеазы.

[411] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложены маскированные цитокины с оптимальным коэффициентом окклюзии. В некоторых вариантах осуществления оптимальный коэффициент окклюзии маскированного цитокина указывает на то, что маскированный цитокин имеет необходимые свойства, пригодные для способов или композиций, рассматриваемых в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, предложенный в настоящем документе, демонстрирует оптимальное соотношение окклюзии от приблизительно 2 до приблизительно 10000, например от приблизительно 80 до приблизительно 100. В дополнительном варианте осуществления любого из маскированных цитокинов,

предложенных в настоящем документе, коэффициент окклюзии составляет от приблизительно 2 до приблизительно 7500, от приблизительно 2 до приблизительно 5000, от приблизительно 2 до приблизительно 2500, от приблизительно 2 до приблизительно 2000, от приблизительно 2 до приблизительно 1000, от приблизительно 2 до приблизительно 900, от приблизительно 2 до приблизительно 800, от приблизительно 2 до приблизительно 700, от приблизительно 2 до приблизительно 600, от приблизительно 2 до приблизительно 500, от приблизительно 2 до приблизительно 400, от приблизительно 2 до приблизительно 300, от приблизительно 2 до приблизительно 200, от приблизительно 2 до приблизительно 100 от приблизительно 2 до приблизительно 50, от приблизительно 2 до приблизительно 25, от приблизительно 2 до приблизительно 15, от приблизительно 2 до приблизительно 10, от приблизительно 5 до приблизительно 10, от приблизительно 5 до приблизительно 15, от приблизительно 5 до приблизительно 20, от приблизительно 10 до приблизительно 100, от приблизительно 20 до приблизительно 100, от приблизительно 30 до приблизительно 100, от приблизительно 40 до приблизительно 100, от приблизительно 50 до приблизительно 100, от приблизительно 60 до приблизительно 100, от приблизительно 70 до приблизительно 100, от приблизительно 80 до приблизительно 100 или от приблизительно 100 до приблизительно 1000. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, предложенный в настоящем документе, демонстрирует оптимальный коэффициент окклюзии от приблизительно 2 до приблизительно 1000. Связывание маскированного полипептида IL-2 с целевым белком перед расщеплением и/или после расщепления протеазой можно определить с использованием методик, хорошо известных в данной области техники, таких как ELISA.

[412] В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент, описанный в настоящем документе, связывается с цитокином или его функциональным фрагментом, как описано в настоящем документе, с более низкой аффинностью, чем аффинность между цитокином или его функциональным фрагментом и целевым белком (например, цитокиновым рецептором). В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент, предложенный в настоящем документе, связывается с цитокином или его функциональным фрагментом, как описано в настоящем документе, с константой диссоциации (K_d) ≥ 500 мкМ, ≥ 250 мкМ, ≥ 200 мкМ, ≥ 150 мкМ, ≥ 100 мкМ, ≥ 50 мкМ, ≥ 10 мкМ, ≥ 1 мкМ, ≥ 500 нМ, ≥ 250 нМ, ≥ 150 нМ, ≥ 100 нМ, ≥ 50 нМ, ≥ 10 нМ, ≥ 1 нМ, $\geq 0,1$ нМ, $\geq 0,01$ нМ или $\geq 0,001$ нМ.

Получение маскированных цитокинов

[413] Маскированные цитокины, описанные в настоящем документе, получают с использованием методик, доступных в данной области техники, иллюстративные способы которых описаны.

Получение антител

[414] Некоторые варианты маскированного цитокина содержат антитело или его фрагмент. В следующих разделах представлены дополнительные сведения о получении антител и их фрагментов, вариантов и производных, которые могут использоваться в

некоторых вариантах осуществления маскированного цитокина, предложенного в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин находится в форме димера, образуемого двумя копиями маскированного цитокина, которые ассоциированы с помощью дисульфидных связей.

1. Фрагменты антител

[415] Настоящее изобретение охватывает в некоторых вариантах осуществления фрагменты антител. Фрагменты антител могут представлять собой любые фрагмент антител, такие как Fc-домен, часть тяжелой цепи, часть легкой цепи, Fab, Fv или scFv, среди других фрагментов. Фрагменты антител могут быть получены с помощью традиционных способов, таких как ферментативное расщепление, или с помощью рекомбинантных методик. В определенных обстоятельствах имеются преимущества связывания фрагментов антител, а не целых антител, с маскированными цитокинами, описанными в настоящем документе. Для обзора некоторых фрагментов антител см. Hudson et al. (2003) Nat. Med. 9:129-134.

[416] Были разработаны различные методики получения фрагментов антител. Традиционно эти фрагменты получали путем протеолитического расщепления интактных антител (см., например, Morimoto et al., Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117 (1992); и Brennan et al., Science, 229:81 (1985)). Однако в настоящем документе эти фрагменты можно получать непосредственно рекомбинантными клетками-хозяевами. Фрагменты антител Fab, Fv и ScFv могут все экспрессироваться и секретироваться из *E. coli* и других типов клеток, таких как клетки НЕК293 и CHO, что позволяет легко получать большие количества этих фрагментов. В качестве альтернативы фрагменты Fab'-SH могут быть непосредственно извлечены из культуральной среды и химически связаны с образованием фрагментов F(ab')₂ (Carter et al., Bio/Technology 10: 163-167 (1992)). В соответствии с другим подходом, фрагменты F(ab')₂ можно выделить непосредственно из культуры рекомбинантных клеток-хозяев. Фрагменты Fab и F(ab')₂ с увеличенным периодом полужизни *in vivo*, содержащие остатки эпитопа, связывающего FcRN/рецептор реутилизации, описаны в патентах США № 5869046. Другие методики получения фрагментов антител для применения в маскированных цитокинах будут очевидны практикующему специалисту. В определенных вариантах осуществления маскированный цитокин содержит одноцепочечный фрагмент Fv (scFv). См. WO 93/16185; патент США №№ 5571894; и 5587458. Слитые белки scFv могут быть сконструированы для получения слияния эффекторного белка либо на amino-, либо на карбоксиконце scFv. См. Antibody Engineering, ed. Vorebaeck, выше. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления bi-scFv, содержащий два scFv, связанных полипептидным линкером, можно использовать с маскированными цитокинами.

[417] Настоящее изобретение включает в некоторых вариантах осуществления линейное антитело (например, как описано в патенте США № 5641870) или одноцепочечный иммуноглобулин, содержащий последовательности тяжелой и легкой цепей антитела, связанные посредством соответствующего линкера. Такие линейные

антитела или иммуноглобулины могут быть моноспецифическими или биспецифическими. Такой одноцепочечный иммуноглобулин можно димеризовать, чтобы тем самым сохранить структуру и активность, аналогичные таковым у антитела, которое изначально является тетрамером. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент может представлять собой антитело, которое имеет одну переменную область тяжелой цепи и не имеет последовательности легкой цепи. Такое антитело называется однодоменным антителом (sdAb) или нанотелом. Эти антитела также охватываются значением функционального фрагмента антитела в соответствии с настоящим изобретением. Фрагменты антител могут быть связаны с маскированными цитокинами, описанными в настоящем документе, в соответствии с указаниями, представленными в настоящем документе.

2. Гуманизированные антитела

[418] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение охватывает гуманизированные антитела или их фрагменты. В некоторых вариантах осуществления гуманизированные антитела могут представлять собой любые антитела, включая любой фрагмент антитела. В данной области техники известны различные способы гуманизации отличных от человеческих антител. Например, гуманизированное антитело может иметь один или несколько аминокислотных остатков, введенных в него из источника, не относящегося к человеку. Эти отличные от человеческих аминокислотные остатки часто называют «импортными» остатками, которые обычно берутся из «импортного» переменного домена. Гуманизация может быть по сути выполнена в соответствии со способом Winter (Jones et al. (1986) Nature 321:522-525; Riechmann et al. (1988) Nature 332:323-327; Verhoeven et al. (1988) Science 239:1534-1536), с помощью замены последовательности гиперпеременной области на соответствующие последовательности человеческого антитела. Соответственно, такие «гуманизированные» антитела представляют собой химерные антитела (патент США № 4816567), при этом существенно меньше, чем интактный переменный домен человека, заменено соответствующей последовательностью из отличного от человека вида. На практике гуманизированные антитела обычно представляют собой человеческие антитела, в которых некоторые остатки гиперпеременной области и, возможно, некоторые остатки FR заменены остатками из аналогичных сайтов в антителах грызунов. Гуманизированные антитела могут быть связаны с маскированными цитокинами, описанными в настоящем документе, в соответствии с руководящими указаниями, приведенными в настоящем документе.

3. Человеческие антитела

[419] Человеческие антитела в соответствии с некоторыми вариантами осуществления могут быть сконструированы путем комбинирования последовательности (последовательностей) переменного домена клона Fv, выбранной (выбранных) из полученных от человека библиотек фагового дисплея, с известной (известными) последовательностью (последовательностями) константного домена человека. В качестве альтернативы человеческие моноклональные антитела в соответствии с некоторыми

вариантами осуществления могут быть получены с помощью гибридного способа, например, с использованием клеток мыши, крысы, крупного рогатого скота (например коровы) или кролика, например, для получения человеческих моноклональных антител. В некоторых вариантах осуществления человеческие антитела и человеческие моноклональные антитела могут представлять собой антитела, которые связываются с любым антигеном. В некоторых вариантах осуществления человеческие моноклональные антитела по настоящему изобретению могут быть получены путем иммунизации животного, отличного от человека, которое содержит локусы иммуноглобулина человека, целевым антигеном, и выделения антитела от иммунизированного животного или из клеток, полученных от иммунизированного животного. Примеры подходящих животных, отличных от человека, включают трансгенное или трансхромосомное животное, такое как HuMAb Mouse® (Medarex, Inc.), KM Mouse®, «мышь ТС» и Xenomouse™. См., например, Lonberg, et al. (1994) Nature 368: 856-859; Fishwild, D. et al. (1996) Nature Biotechnology 14: 845-851; WO2002/43478; патенты США №№ 5939598; 6075181; 6114598; 6150584; 6162963; и Tomizuka et al. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:722-727.

[420] Клеточные линии миеломы человека и гетеромиеломы мышь-человек для продуцирования человеческих моноклональных антител описаны, например, Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); и Voerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991). Человеческие антитела могут быть связаны с маскированными цитокинами, описанными в настоящем документе, в соответствии с руководящими указаниями, приведенными в настоящем документе.

4. Биспецифические антитела

[421] Биспецифические антитела представляют собой моноклональные антитела, которые обладают специфичностью связывания по меньшей мере с двумя разными антигенами. В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела представляют собой человеческие или гуманизированные антитела. В некоторых вариантах осуществления одна из специфичностей связывания относится к первому антигену, а другая специфичность связывания относится ко второму антигену, которые могут представлять собой либо два разных эпитопа на одном и том же целевом белке, либо два разных эпитопа на двух разных целевых белках. Биспецифические антитела также можно использовать для локализации цитотоксических агентов в клетках, которые экспрессируют первый антиген и/или второй антиген. Биспецифические антитела также можно использовать для рекрутинга клеток, таких как Т-клетки или естественные клетки-киллеры, для уничтожения определенных клеток, например раковых клеток. Биспецифические антитела могут быть получены в виде полноразмерных антител или фрагментов антител (например, биспецифических антител F(ab')₂). Биспецифические антитела могут быть связаны с маскированными цитокинами, описанными в настоящем документе, в соответствии с руководящими указаниями, приведенными в настоящем документе.

[422] Способы создания биспецифических антител известны в данной области техники. См. Milstein and Cuello, *Nature*, 305: 537 (1983), WO 93/08829 published May 13, 1993, Trauneker et al., *EMBO J.*, 10: 3655 (1991); Kontermann and Brinkmann, *Drug Discovery Today*, 20(7):838-847. Для получения дополнительных сведений о создании биспецифических антител см., например, Suresh et al., *Methods in Enzymology*, 121:210 (1986). Биспецифические антитела включают сшитые или «гетероконъюгированные» антитела. Например, одно из антител в гетероконъюгате может быть связано с авидином, другое - с биотином. Гетероконъюгированные антитела можно получить с использованием любого удобного способа перекрестного связывания. Подходящие связывающие агенты хорошо известны в данной области техники и раскрыты в патенте США № 4676980, наряду с рядом методик перекрестного связывания.

5. Однодоменные антитела

[423] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связано с маскированным цитокином в соответствии с указаниями, представленными в настоящем документе. Однодоменное антитело может представлять собой любое антитело. Однодоменное антитело представляет собой одиночную полипептидную цепь, содержащую весь или часть переменного домена тяжелой цепи или весь или часть переменного домена легкой цепи антитела. В определенных вариантах осуществления однодоменное антитело представляет собой человеческое однодоменное антитело (Domantis, Inc., Waltham, Mass; см., например, патент США № 6248516 B1). В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело состоит из всего или части переменного домена тяжелой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело представляет собой антитело, происходящее от верблюжьих, полученное путем иммунизации верблюжьих целевым антигеном. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело представляет собой антитело, происходящее от акулы, полученное путем иммунизации акулы целевым антигеном. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело представляет собой нанотело (см., например, WO 2004041865A2 и US20070269422A1).

6. Варианты антител

[424] В некоторых вариантах осуществления предусмотрены модификации аминокислотной последовательности антител или их фрагментов, описанных в настоящем документе. Например, может быть желательным улучшить аффинность связывания FcRn и/или pH-зависимую аффинность связывания FcRn антитела. Также может быть желательным способствовать гетеродимеризации тяжелых цепей антител путем введения определенных аминокислотных модификаций. Способы стимулирования гетеродимеризации цепей антител, включая определенные модификации, которые могут быть выполнены для облегчения гетеродимеризации, описаны Klein et al. (2012), *MAbs*, 4(6): 653-663.

[425] Варианты аминокислотной последовательности антитела могут быть получены с помощью включения соответствующих изменений в нуклеотидную

последовательность, кодирующую антитело, или с помощью пептидного синтеза. Такие модификации включают, например, делеции и/или вставки и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антитела. Любая комбинация делеции, вставки и замены может быть использована для получения конечной конструкции при условии, что конечная конструкция обладает необходимыми характеристиками. Аминокислотные изменения могут быть внесены в аминокислотную последовательность рассматриваемого антитела во время создания этой последовательности.

[426] Пригодный способ идентификации определенных остатков или областей антитела, которые являются предпочтительными местами для мутагенеза, называется «аланиновый сканирующий мутагенез», как описано Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085. В настоящем документе идентифицируют остаток или группу целевых остатков (например заряженные остатки, такие как arg, asp, his, lys и glu) и заменяют нейтральной или отрицательно заряженной аминокислотой (например аланином или полиаланином) для того, чтобы повлиять на взаимодействие аминокислот с антигеном. Те положения аминокислот, которые демонстрируют функциональную чувствительность к заменам, затем уточняют с помощью введения дополнительных или других вариантов в сайты замены или вместо них. Таким образом, несмотря на то, что сайт для введения вариации аминокислотной последовательности является предварительно определенной, природа мутации как таковая необязательно должна быть предварительно определенной. Например, для анализа эффективности мутации в данном сайте, аланиновый сканирующий или случайный мутагенез проводят в целевом кодоне или области, и экспрессированные иммуноглобулины подвергают скринингу в отношении необходимой активности.

[427] Вставки аминокислотной последовательности включают амино- и/или карбоксиконцевые слияния длиной от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или более остатков, а также вставки внутри последовательности одного или нескольких аминокислотных остатков. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым метионильным остатком. Другие инсерционные варианты молекулы антитела включают слияние N- или C-конца антитела с ферментом или полипептидом, что увеличивает время полужизни антитела в сыворотке крови.

[428] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин модифицирован для устранения, уменьшения или иного препятствия расщеплению протеазой вблизи шарнирной области. «Шарнирная область» IgG обычно определяется как включающая E216 и оканчивающаяся на P230 человеческого IgG1 в соответствии с ЕС-индексом, как в Kabat, однако функционально можно считать, что гибкая часть цепи содержит дополнительные остатки, называемые верхними и нижними шарнирными областями, например, от E216 до G237 (Roux et al., 1998 *J Immunol* 161:4083), и нижний шарнир был обозначен в виде остатков с 233 по 239 Fc-области, при этом обычно приписывалось связывание Fc γ R. Модификации любого из маскированных цитокинов, описанных в настоящем документе, могут быть выполнены, например, в соответствии со

способами, описанными в US 20150139984A1, который включен в настоящий документ посредством ссылки, а также с помощью включения любых модификаций, описанных в настоящем документе.

[429] В некоторых вариантах осуществления мутации FcRn, улучшающие фармакокинетику, включают, но не ограничиваются ими, M428L, T250Q/M428L, M252Y/S254T/T256E, P257I/N434H, D376V/N434H, P257I/Q3111, N434A, N434W, M428L/N434S, V259I/V308F, M252Y/S254T/T256E, V259I/V308F/M428L, T307Q/N434A, T307Q/N434S, T307Q/E380A/N434A, V308P/N434A, N434H, V308P. В некоторых вариантах осуществления такие мутации усиливают связывание антитела с FcRn при низком значении pH, но не изменяют аффинность антитела при нейтральном значении pH.

[430] В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент изменяют для увеличения или уменьшения степени гликозилирования антитела. Гликозилирование полипептидов обычно является либо N-связанным, либо O-связанным. N-связанный относится к присоединению углеводного фрагмента к боковой цепи остатка аспарагина. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, при этом X представляет собой любую аминокислоту, кроме пролина, представляют собой последовательности распознавания для ферментативного присоединения углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагина. Таким образом, присутствие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде образует потенциальный сайт гликозилирования. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксиаминокислоте, чаще всего серину или треонину, хотя также можно использовать 5-гидроксипролин или 5-гидроксилизин.

[431] Добавление или удаление сайтов гликозилирования к маскированному цитокину удобно выполнять с помощью изменения аминокислотной последовательности таким образом, что образуется или удаляется одна или несколько из описанных выше трипептидных последовательностей (для сайтов N-связанного гликозилирования). Изменение также может быть выполнено с помощью добавления, удаления или замены одного или нескольких остатков серина или треонина в последовательности исходного антитела (для сайтов O-связанного гликозилирования).

[432] Если антитело или его фрагмент содержат Fc-область, углевод, присоединенный к ней, может быть изменен. Например, антитела со зрелой углеводной структурой, в которой отсутствует фукоза, присоединенная к Fc-области антитела, описаны в заявке на патент США № US 2003/0157108 (Presta, L.). См. также US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Антитела с бисектным N-ацетилглюкозамином (GlcNAc) в углеводе, присоединенном к Fc-области антитела, упоминаются в WO 2003/011878, Jean-Mairet et al. и патенте США № 6602684, Umana et al. Антитела с по меньшей мере одним остатком галактозы в олигосахариде, присоединенном к Fc-области антитела, описаны в WO 1997/30087, Patel et al. см. также WO 1998/58964 (Raju, S.) и WO 1999/22764 (Raju, S.), касающиеся антител с измененным углеводом,

присоединенным к их Fc-области. См. также US 2005/0123546 (Umana et al.) касательно антигенсвязывающих молекул с модифицированным гликозилированием.

[433] В определенных вариантах осуществления вариант гликозилирования содержит Fc-область, при этом углеводная структура, присоединенная к Fc-области, не содержит фукозы или имеет сниженное количество фукозы. Такие варианты имеют улучшенную функцию ADCC. Необязательно Fc-область дополнительно содержит в себе одну или несколько аминокислотных замен, которые дополнительно улучшают ADCC, например, замены в положениях 298, 333 и/или 334 Fc-области (Eu-нумерация остатков). Примеры публикаций, относящихся к «дефукозилированным» антителам или антителам «с недостаточностью фукозы» включают: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; Okazaki et al. *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004). Примеры клеточных линий, продуцирующих дефукозилированные антитела, включают клетки Lec13 CHO с недостаточностью фукозилирования белка (Ripka et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); заявка на патент США № US 2003/0157108 A1, Presta, L; и WO 2004/056312 A1, Adams et al., особенно в Примере 11), и клеточные линии с нокаутом, такие как клетки с нокаутом CHO по гену альфа-1,6-фукозилтрансферазы, FUT8 (Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)), и клетки, сверхэкспрессирующие β 1,4-N-ацетилгликозминилтрансферазу III (GnT-III) и μ -маннозидазу аппарата Гольджи II (ManII).

[434] В любом из вариантов осуществления настоящего документа маскированный цитокин может быть сконструирован для повышения активности антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности (ADCC). В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин может продуцироваться в клеточной линии, имеющей нокаут по альфа-1,6-фукозилтрансферазе (Fut8). В некоторых вариантах осуществления клетки-хозяева были модифицированы таким образом, чтобы они имели сниженную активность альфа1,6-фукозилирования. Примеры способов модификации путей фукозилирования в клетках-хозяевах млекопитающих можно найти, например, в работе Yamane-Ohnuki and Satoh, *MAbs*, 1(3): 230-236 (2009), содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки. Примеры способов и композиций для частичной или полной инактивации экспрессии гена FUT8 можно найти, например, в публикации США № 20160194665A1; WO2006133148A2, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин продуцируется в варианте Lec13 клеток CHO (см., например, Shields et al., *J. Biol. Chem.*, 277(30):26733-40 (2002)) или клеточной линии YB2/0, имеющей сниженную активность FUT8 (см., например, Shinkawa et al., *J. Biol. Chem.*, 278(5): 3466-73 (2003)). В некоторых вариантах осуществления может быть введена малая интерферирующая РНК (siRNA) против генов, относящихся к альфа-1,6-

фукозилированию (см., например, Mori et al., *Biotechnol. Bioeng.* 88(7): 901-908 (2004); Imai-Nishiya et al., *BMC Biotechnol.* 7: 84 (2007); Omasa et al., *J. Biosci. Bioeng.*, 106(2): 168-173 (2008)). В некоторых дополнительных вариантах осуществления маскированный цитокин может продуцироваться в клеточной линии, сверхэкспрессирующей β 1,4-N-ацетилглюкозаминилтрансферазу III (GnT-III). В дополнительных вариантах осуществления клеточная линия дополнительно сверхэкспрессирует μ -маннозидазу аппарата Гольджи II (ManII). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения маскированный цитокин может содержать по меньшей мере одну аминокислотную замену в Fc-области, которая улучшает активность ADCC.

[435] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин изменяют для увеличения его периода полужизни в сыворотке крови. Для увеличения периода полужизни цитокина в сыворотке крови можно включить эпитоп, связывающий FcRN/рецептор реутилизации, в связанное антитело (особенно фрагмент антитела), как описано, например, в патенте США № 5739277. Термин «эпитоп, связывающий рецептор реутилизации» в контексте настоящего документа относится к эпитопу Fc-области молекулы IgG (например, IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4), который отвечает за увеличение периода полужизни в сыворотке крови *in vivo*. Молекула IgG (US 2003/0190311, патент США № 6821505; патент США № 6165745; патент США № 5624821; патент США № 5648260; патент США № 6165745; патент США № 5834597).

[436] Другой тип варианта представляет собой вариант с заменой аминокислоты. В этих вариантах по меньшей мере один аминокислотный остаток в молекуле антитела заменен другим остатком. Сайты, представляющие интерес для замещающего мутагенеза, включают гипервариабельные области, но также рассматриваются изменения FR. Консервативные замены представлены в Табл. 3 под заголовком «предпочтительные замены». Если такие замены приводят к необходимому изменению биологической активности, тогда более существенные изменения, обозначенные «иллюстративными заменами» в Табл. 3 или как дополнительно описано ниже в отношении классов аминокислот, могут быть введены, а продукты подвергнуты скринингу.

Таблица 3

Исходный остаток	Иллюстративные замены	Предпочтительные замены
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala

His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; норлейцин	Leu
Leu (L)	Норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; норлейцин	Leu

[437] Существенные модификации биологических свойств антитела достигаются путем выбора замен, которые значительно различаются по своему влиянию на поддержание (а) структуры полипептидного остова в области замены, например, в виде листовой или спиральной конформации, (b) заряда или гидрофобности молекулы в целевом сайте или (с) объемной части боковой цепи. Аминокислоты могут быть сгруппированы в соответствии со сходством свойств их боковых цепей (в A. L. Lehninger, in *Biochemistry*, second ed., pp. 73-75, Worth Publishers, New York (1975)):

(1) неполярные: Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P), Phe (F), Trp (W), Met (M)

(2) незаряженные полярные: Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q)

(3) кислые: Asp (D), Glu (E)

(4) основные: Lys (K), Arg (R), His (H)

[438] В качестве альтернативы встречающиеся в природе остатки можно разделить на группы на основании общих свойств боковой цепи:

(1) гидрофобные: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

(2) нейтральные гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

(3) кислые: Asp, Glu;

(4) основные: His, Lys, Arg;

(5) остатки, которые влияют на ориентацию цепи: Gly, Pro;

(6) ароматические: Trp, Tyr, Phe.

[439] Неконсервативные замены повлекут за собой замену представителя одного из этих классов на другой класс. Такие замещенные остатки также могут быть введены в сайты консервативных замен или в оставшиеся (неконсервативные) сайты.

[440] Другой тип варианта с замещением включает замену встречающегося в природе аминокислотного остатка на не встречающийся в природе аминокислотный остаток. Не встречающиеся в природе аминокислотные остатки могут быть включены, например, с помощью перекодирования tRNA или с помощью любого из способов, как описано, например, в WO 2016154675A1, которая включена в настоящий документ посредством ссылки.

[441] Один тип варианта замены включает замену одного или нескольких остатков гипервариабельной области исходного антитела (например гуманизированного или человеческого антитела). Как правило, полученные в результате варианты, выбранные для дальнейшей разработки, будут иметь модифицированные (например улучшенные) биологические свойства по сравнению с исходным антителом, из которого они получены. Удобный способ создания таких вариантов замены включает созревание аффинности с использованием фагового дисплея, дрожжевого дисплея или дисплея млекопитающих. Вкратце, несколько сайтов гипервариабельной области (например 6-7 сайтов) мутируют для создания всех возможных аминокислотных замен в каждом сайте. Образованные таким образом антитела подлежат дисплею из частиц нитчатого фага в виде слияния по меньшей мере с частью белка оболочки фага (например, продукта гена III M13), упакованного в каждой частице. Затем подлежащие фаговому дисплею варианты подвергаются скринингу в отношении их биологической активности (например, аффинности связывания). Для идентификации кандидатных сайтов гипервариабельных областей для модификации, сканирующий мутагенез (например аланиновое сканирование) может быть выполнен для идентификации остатков гипервариабельных областей, вносящих значительный вклад в связывание антигена. В качестве альтернативы или в качестве дополнения может быть полезно проанализировать кристаллическую структуру комплекса антиген-антитело для определения точек контакта между антителом и антигеном. Такие контактные остатки и соседние остатки являются кандидатами на замену в соответствии с методиками, известным в данной области техники, включая разработанные в настоящем документе. После создания таких вариантов панель вариантов подвергают скринингу с использованием методик, известных в данной области техники, включая описанные в настоящем документе, и антитела с более эффективными свойствами в одном или нескольких соответствующих анализах могут быть отобраны для дальнейшей разработки.

[442] Молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие варианты аминокислотных последовательностей маскированных цитокинов, получают различными способами, известными в данной области техники. Эти способы включают, но не ограничиваются ими, выделение из природного источника (в случае встречающихся в природе вариантов аминокислотной последовательности) или получение с помощью олигонуклеотид-опосредованного (или сайт-направленного) мутагенеза, мутагенеза с помощью ПЦР и каскадного мутагенеза более раннего подготовленного варианта или, например, невариантной версии антитела.

[443] Может быть желательным ввести одну или несколько аминокислотных модификаций в Fc-область антител по настоящему изобретению, создав тем самым вариант Fc-области. Вариант Fc-области может содержать последовательность Fc-области человека (например, Fc-область человеческого IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4), содержащую аминокислотную модификацию (например замену) в одном или нескольких положениях аминокислот, включая положение цистеина шарнира.

[444] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, предложенный в настоящем документе, включает антитело или его фрагмент, имеющий изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 с усиленной эффекторной функцией. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, предложенный в настоящем документе, включает антитело или его фрагмент, имеющий изотип IgG1 с усиленной эффекторной функцией. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, предложенный в настоящем документе (например маскированный полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент, или маскированный полипептид IL-15 или его функциональный фрагмент), имеет изотип IgG1 с усиленной эффекторной функцией. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин является афукозилированным. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин имеет повышенные уровни маннозных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин имеет повышенные уровни бисектных гликановых фрагментов. В некоторых вариантах осуществления IgG1 содержит аминокислотные мутации.

[445] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, предложенный в настоящем документе, включает антитело, имеющее изотип IgG1 (например изотип человеческого IgG1). В некоторых вариантах осуществления IgG1 содержит одну или несколько аминокислотных замен, которые усиливают эффекторную функцию. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены S298A, E333A и K334A, при этом аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом, как в Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены S239D и I332E, при этом аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом, как в Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены S239D, A330L и I332E, при этом аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом, как в Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены P247I и A339D или A339Q, при этом аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом, как в Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены D280H, K290S с или без S298D или S298V, при этом аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом, как в Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены F243L, R292P и Y300L, при этом аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом, как в Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены F243L, R292P,

аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом, как в Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены S239D, A330S и I332E, при этом аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом, как в Kabat.

[446] В некоторых вариантах осуществления IgG1 содержит одну или несколько аминокислотных замен, которые снижают или ингибируют эффекторную функцию. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотную замену N297A, N297G или N297Q, при этом аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом, как в Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотную замену L234A или L235A, при этом аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом, как в Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены C220S, C226S, C229S и P238S, при этом аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом, как в Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены C226S, C229S, E233P, L234V и L235A, при этом аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом, как в Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены L234F, L235E и P331S, при этом аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом, как в Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены S267E и L328F, при этом аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом, как в Kabat.

[447] В соответствии с этим описанием и идеями в данной области техники, предполагается, что в некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент маскированного цитокина может содержать одно или несколько изменений по сравнению с аналогичным антителом дикого типа, например в Fc-области. Например, считается, что в Fc-области могут быть внесены определенные изменения, которые приведут к измененному (т.е., либо к улучшенному, либо к сниженному) связыванию C1q и/или комплемент-зависимой цитотоксичности (CDC), например, как описано в WO99/51642. См. также Duncan & Winter Nature 322:738-40 (1988); патент США № 5648260; патент США № 5624821; и WO94/29351 касательно других примеров вариантов Fc-области. WO00/42072 (Presta) и WO 2004/056312 (Lowman) описывают варианты антител с улучшенным или сниженным связыванием с FcR. Содержание этих патентных публикаций особо включено в настоящий документ посредством ссылки. См. также Shields et al. J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001). Антитела с увеличенным периодом полужизни и улучшенным связыванием с неонатальным рецептором Fc (FcRn), который отвечает за передачу материнских IgG плоду (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) and Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)), описаны в US 2005/0014934 A1 (Hinton et al.). Эти антитела содержат Fc-область с одной или несколькими заменами в ней, которые улучшают связывание Fc-области с FcRn. Варианты полипептида с измененными аминокислотными последовательностями Fc-области и повышенной или пониженной способностью связывания C1q описаны в патентах США №№ 6194551B1, WO99/51642.

Содержание этих патентных публикаций особо включено в настоящий документ посредством ссылки. См. также Idusogie et al. *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000).

Конъюгаты маскированных цитокинов и лекарственных средств

[448] В настоящем изобретении также предложены конъюгаты маскированного цитокина и лекарственного средства (MCDC), содержащие маскированный цитокин, представленный в настоящем документе, который может представлять собой любой маскированный цитокин, раскрываемый в настоящем документе, конъюгированный с одним или несколькими средствами. В некоторых вариантах осуществления один или несколько агентов представляют собой цитотоксический агент, такой как химиотерапевтический агент или лекарственное средство, агент, ингибирующий рост, токсин (например белковый токсин, ферментативно активный токсин бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения или их фрагменты) или радиоактивные изотопы. В некоторых вариантах осуществления один или несколько агентов представляют собой иммуностимулятор.

[449] В некоторых вариантах осуществления одно или несколько лекарственных средств, конъюгированных с маскированным цитокином, включают, но не ограничиваются ими, майтанзиноид (см. патенты США №№ 5208020, 5416064 и Европейский патент EP 0425235 B1); ауристин, такой как лекарственные фрагменты DE и DF монометилауристината (ММАЕ и ММАФ) (см. патенты США №№ 5635483, 5780588 и 7498298); доластин; калихеамицин или его производное (см. патенты США №№ 5712374, 5714586, 5739116, 5767285, 5770701, 5770710, 5773001 и 5877296; Hinman et al., *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993); и Lode et al., *Cancer Res.* 58: 2925-2928 (1998)); антрациклин, такой как дауномицин или доксорубин (см. Kratz et al., *Current Med. Chem.* 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362 (2006); Torgov et al., *Bioconj. Chem.* 16:717-721 (2005); Nagy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532 (2002); King et al., *J. Med. Chem.* 45:4336-4343 (2002); и патент США № 6630579); метотрексат; виндезин; таксан, такой как доцетаксел, паклитаксел, ларотаксел, тезетаксел и ортатаксел; трихотецен; и CC1065.

[450] В другом варианте осуществления одно или несколько лекарственных средств, конъюгированных с маскированным цитокином, включают, но не ограничиваются ими, ингибитор полимеризации тубулина (например, майтанзиноиды и ауристатины), агенты, повреждающие ДНК (например, димеры пирролобензодиазепина (PBD), калихеамицины, дуокармицины и димеры индолинобензодиазепина) и ингибиторы синтеза ДНК (например, производное экзатекана Dxd).

[451] В другом варианте осуществления конъюгат маскированного цитокина и лекарственного средства содержит маскированный цитокин, как описано в настоящем документе, конъюгированный с ферментативно активным токсином или его фрагментом, включая, помимо прочего, дифтерийную цепь А, несвязывающие активные фрагменты дифтерийного токсина, цепь экзотоксина А (от *Pseudomonas aeruginosa*), цепь рицина А,

цепь абрина А, цепь модекцина А, альфа-сарцин, белки *Aleurites fordii*, белки диантина, белки *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII и PAP-S), ингибитор *Momordica charantia*, курцин, кротин, ингибитор *Sapaonaria officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, эномицин и трикотецены.

[452] В другом варианте осуществления конъюгат маскированного цитокина с лекарственным средством содержит маскированный цитокин, как описано в настоящем документе, конъюгированный с радиоактивным атомом с образованием радиоконъюгата. Для получения радиоконъюгатов доступны различные радиоактивные изотопы. Примеры включают At211, I131, I125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32, Pb212 и радиоактивные изотопы Lu. При использовании радиоконъюгата для обнаружения, он может содержать радиоактивный атом для скинтиграфических исследований, например Tc99m или I123, или спиновую метку для получения изображения ядерного магнитного резонанса (NMR) (также известного как магнитно-резонансная томография, MRI), например йод-123 повторно, йод-131, индий-111, фтор-19, углерод-13, азот-15, кислород-17, гадолиний, марганец или железо.

[453] В некоторых вариантах осуществления конъюгат маскированного цитокина и лекарственного средства включает маскированный цитокин, как описано в настоящем документе, конъюгированный с одним или несколькими иммуностимуляторами. В некоторых вариантах осуществления иммуностимулятор представляет собой стимулятор агониста генов интерферона (STING) или агонист толл-подобных рецепторов (TLR).

[454] Агонист STING может представлять собой любой агонист STING. В некоторых вариантах осуществления агонист STING представляет собой циклический динуклеотид (CDN). CDN может представлять собой любой CDN или его производное или вариант. В некоторых вариантах осуществления агонист STING представляет собой CDN, выбранный из группы, состоящей из cGAMP, с-ди-AMP, с-ди-GMP, cAIMP и с-ди-IMP. В некоторых вариантах осуществления агонист STING представляет собой производное или вариант CDN, выбранные из группы, состоящей из cGAMP, с-ди-AMP, с-ди-GMP, cAIMP и с-ди-IMP. В некоторых вариантах осуществления агонист STING представляет собой 4-(2-хлор-6-фторбензил)-N-(фуран-2-илметил)-3-оксо-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-карбоксамид или его производное или вариант. См., например, Sali et al. (2015) PloS Pathog., 11(12): e1005324.

[455] Агонист TLR может представлять собой агонист любого TLR, такого как TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 или TLR10. В некоторых вариантах осуществления агонист TLR представляет собой агонист TLR, экспрессируемого на поверхности клетки, такого как TLR1, TLR2, TLR4 или TLR5. В некоторых вариантах осуществления агонист TLR представляет собой агонист TLR, экспрессируемого внутриклеточно, например TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 или TLR10.

[456] Конъюгаты маскированного цитокина и цитотоксического агента могут быть получены с использованием различных бифункциональных белковых связывающих средств, таких как N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдителио)пропионат (SPDP),

сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат (SMCC), иминотиолан (IT), бифункциональные производные сложных имидоэфиров (такие как диметиладипимидат HCl), активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидил суберат), альдегиды (такие как глутаральдегид), бис-азидосоединения (такие как бис(п-азидобензоил)гександиамин), производные бис-диазония (такие как бис(п-диазонийбензоил)этилендиамин), диизоцианаты (такие как толуол 2,6-диизоцианат) и бис-активные соединения фтора (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол). Например, иммунотоксин рицин может быть получен, как описано в работе Vitetta et al., Science 238:1098 (1987). Меченная углеродом-14 1-изотиоцианатобензил-3-метилдиэтилентриаминпентауксусная кислота (MX-DTPA) представляет собой иллюстративное хелатирующее средство для конъюгации радионуклеотида с антителом. См. WO94/11026. Линкер может представлять собой «расщепляемый линкер», способствующий высвобождению цитотоксического лекарственного средства в клетке. Например, могут быть использованы кислотолабильный линкер, чувствительный к пептидазе линкер, фотоллабильный линкер, диметилловый линкер или дисульфидсодержащий линкер (Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992); патент США № 5208020).

[457] MCDC в настоящем документе явно предполагают, но не ограничиваются ими, такие конъюгаты, полученные с помощью перекрестно-линкерных реагентов, включая, но не ограничиваясь ими, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфо-EMCS, сульфо-GMBS, сульфо-KMUS, сульфо-MBS, сульфо-SIAB, сульфо-SMCC и сульфо-SMPB и SVSB (сукцинимидил-(4-винилсульфон)бензоат), которые являются коммерчески доступными (например, от Pierce Biotechnology, Inc., Рокфорд, Иллинойс, США).

Векторы, клетки-хозяева и рекомбинантные способы

[458] Для рекомбинантного получения маскированного цитокина по настоящему изобретению одну или несколько нуклеиновых кислот, кодирующих его, выделяют и вставляют в реплицируемый вектор для дальнейшего клонирования (амплификации ДНК) или для экспрессии. ДНК, кодирующая маскированный цитокин, включая его компоненты, легко выделяется и секвенируется с использованием стандартных процедур. Доступно множество векторов. Выбор вектора частично зависит от используемой клетки-хозяина. Как правило, клетки-хозяева имеют прокариотическое или эукариотическое (обычно от млекопитающих) происхождение. Следует понимать, что константные области любого изотипа антитела или его фрагмента, при необходимости, могут быть использованы для этой цели, включая константные области IgG, IgM, IgA, IgD и IgE, и что такие константные области могут быть получены от человека или любых видов животных. В некоторых вариантах осуществления для кодирования маскированного цитокина используется один вектор. В некоторых вариантах осуществления для кодирования маскированного цитокина используется более одного вектора.

1. Получение маскированных цитокинов с использованием прокариотических

клеток-хозяев

Конструкция векторов

[459] Полинуклеотидные последовательности, кодирующие полипептидные компоненты маскированных цитокинов по настоящему изобретению, могут быть получены с использованием стандартных рекомбинантных методик. Необходимые полинуклеотидные последовательности антитела или его фрагмента могут быть выделены и секвенированы из клеток, продуцирующих антитела, таких как клетки гибридомы. В качестве альтернативы полинуклеотиды можно синтезировать с использованием синтезатора нуклеотидов или методик ПЦР или получать из других источников. После получения последовательности, кодирующие компоненты маскированного цитокина, вставляют в рекомбинантный вектор, способный реплицироваться и экспрессировать гетерологичные полинуклеотиды в прокариотических хозяевах. Многие векторы, которые доступны и известны в данной области техники, можно использовать для целей настоящего изобретения. Выбор подходящего вектора будет зависеть, главным образом, от размера нуклеиновых кислот, которые нужно вставить в вектор, и конкретной клетки-хозяина, трансформируемой вектором. Каждый вектор содержит различные компоненты в зависимости от его функции (амплификация или экспрессия гетерологичного полинуклеотида или того и другого) и его совместимости с конкретной клеткой-хозяином, в которой он находится. Компоненты вектора обычно включают, но не ограничиваются ими: точку начала репликации, ген маркера селекции, промотор, сайт связывания рибосомы (RBS), сигнальную последовательность, вставку гетерологичной нуклеиновой кислоты и последовательность терминации транскрипции.

[460] Обычно плазмидные векторы, содержащие репликон и контрольные последовательности, происходящие от видов, совместимых с клеткой-хозяином, используются в связи с этими хозяевами. Вектор обычно несет сайт репликации, а также маркирующие последовательности, которые способны обеспечивать фенотипический отбор в трансформированных клетках. Например, *E. coli* обычно трансформируют с использованием pBR322, плазмиды, полученной из видов *E. coli*. pBR322 содержит гены, кодирующие устойчивость к ампициллину (Amp) и тетрациклину (Tet), и, таким образом, предоставляет простые средства для идентификации трансформированных клеток. pBR322, ее производные или другие микробные плазмиды или бактериофаги также могут содержать промоторы, которые могут использоваться микробным организмом для экспрессии эндогенных белков, или могут быть модифицированы таким образом, чтобы они содержали их. Примеры производных pBR322, используемых для экспрессии конкретных антител, подробно описаны в Carter et al., патенте США № 5648237.

[461] Кроме того, фаговые векторы, содержащие репликон и контрольные последовательности, которые совместимы с микроорганизмом-хозяином, можно использовать в качестве трансформирующих векторов в связи с этими хозяевами. Например, бактериофаг, такой как λ GEM TM-11, может быть использован для создания рекомбинантного вектора, который можно использовать для трансформации

чувствительных клеток-хозяев, таких как *E. coli* LE392.

[462] Вектор экспрессии по настоящему изобретению может содержать две или более пар промотор-цистрон, кодирующих каждый из полипептидных компонентов. Промотор представляет собой нетранслируемую регуляторную последовательность, расположенную выше (5') цистрона, которая модулирует его экспрессию. Прокариотические промоторы обычно делятся на два класса: индуцируемые и конститутивные. Индуцируемый промотор представляет собой промотор, который инициирует повышенные уровни транскрипции цистрона, находящегося под его контролем, в ответ на изменения условий культивирования, например наличие или отсутствие питательного вещества или изменение температуры.

[463] Хорошо известно большое количество промоторов, распознаваемых множеством потенциальных клеток-хозяев. Выбранный промотор может быть функционально связан с цистронной ДНК, кодирующей любую цепь маскированного цитокина, с помощью удаления промотора из исходной ДНК посредством расщепления рестрикционным ферментом и вставки выделенной промоторной последовательности в вектор по настоящему изобретению. Как нативная промоторная последовательность, так и многие гетерологичные промоторы могут использоваться для управления амплификацией и/или экспрессией целевых генов. В некоторых вариантах осуществления используются гетерологичные промоторы, поскольку они обычно обеспечивают более высокую транскрипцию и более высокие выходы экспрессируемого целевого гена по сравнению с промотором нативного целевого полипептида.

[464] Промоторы, подходящие для использования с прокариотическими хозяевами, включают промотор *PhoA*, промоторные системы β -галактамазы и лактозы, промоторную систему триптофана (*trp*) и гибридные промоторы, такие как промотор *tac* или *tcs*. Однако также подходят другие промоторы, которые функциональны в бактериях (такие как другие известные бактериальные или фаговые промоторы). Их нуклеотидные последовательности были опубликованы, что позволяет квалифицированному специалисту функционально связывать их с цистронами, кодирующими, например, легкую и тяжелую целевые цепи для маскированных цитокинов, содержащих легкую и тяжелую цепи (Siebenlist et al. (1980) *Cell* 20: 269) с использованием линкеров или адаптеров для получения любых необходимых рестрикционных сайтов.

[465] В одном аспекте настоящего изобретения каждый цистрон в рекомбинантном векторе содержит компонент сигнальной последовательности секреции, который направляет транслокацию экспрессируемых полипептидов через мембрану. Как правило, сигнальная последовательность может представлять собой компонент вектора или часть ДНК целевого полипептида, которая вставлена в вектор. Сигнальная последовательность, выбранная для целей настоящего изобретения, должна распознаваться и подлежать процессингу (т.е., расщепляться сигнальной пептидазой) клеткой-хозяином. Для прокариотических клеток-хозяев, которые не распознают и не обрабатывают сигнальные последовательности, нативные для гетерологичных полипептидов, сигнальная

последовательность заменяется прокариотической сигнальной последовательностью, выбранной, например, из группы, состоящей из щелочной фосфатазы, пенициллиназы, Ipp или термостабильных лидерных последовательностей энтеротоксина II (STII), LamB, PhoE, PelB, OmpA и MBP. В одном варианте осуществления настоящего изобретения сигнальные последовательности, используемые в обоих цистронах экспрессионной системы, представляют собой сигнальные последовательности STII или их варианты.

[466] В другом аспекте продуцирование полипептидных компонентов в соответствии с настоящим изобретением может происходить в цитоплазме клетки-хозяина и, следовательно, не требует присутствия секреторных сигнальных последовательностей в каждом цистроне. В этом отношении для вариантов осуществления, содержащих легкую и тяжелую цепи иммуноглобулина, например, легкие и тяжелые цепи экспрессируются с последовательностями маскирующего фрагмента, линкерной последовательностью и т.д. или без них, свернутыми и собранными с образованием функциональных иммуноглобулинов в цитоплазме. Определенные штаммы-хозяева (например, trxB-штаммы *E. coli*) обеспечивают условия цитоплазмы, благоприятные для образования дисульфидной связи, тем самым обеспечивая надлежащую укладку и сборку экспрессируемых белковых субъединиц. Proba and Pluckthun Gene, 159:203 (1995).

[467] Маскированные цитокины по настоящему изобретению также могут быть получены с использованием системы экспрессии, в которой можно модулировать количественное соотношение экспрессируемых полипептидных компонентов, чтобы свести к максимуму выход секреторируемых и надлежащим образом собранных антител по настоящему изобретению. Такая модуляция достигается по меньшей мере частично путем одновременного модулирования силы трансляции полипептидных компонентов.

[468] Прокариотические клетки-хозяева, подходящие для экспрессии маскированных цитокинов по настоящему изобретению, включают архебактерии и эубактерии, такие как грамотрицательные или грамположительные организмы. Примеры пригодных бактерий включают виды *Escherichia* (например *E. coli*), *Bacilli* (например *B. subtilis*), *Enterobacteria*, *Pseudomonas* (например *P. aeruginosa*), *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescans*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Shigella*, *Rhizobia*, *Vitreoscilla* или *Paracoccus*. В одном варианте осуществления используют грамотрицательные клетки. В другом варианте осуществления в качестве хозяев по настоящему изобретению используют клетки *E. coli*. Примеры штаммов *E. coli* включают штамм W3110 (Bachmann, Cellular and Molecular Biology, vol. 2 (Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1987), pp. 1190-1219; депонирование в ATCC под № 27325) и его производные, включая штамм 33D3, имеющий генотип W3110 Δ*hlyA* (Δ*tonA*) *ptr3 lac Iq lacL8 ΔompTΔ(nmpc-fepE) degP41 kanR* (патент США № 5639635). Также подходят другие штаммы и их производные, такие как *E. coli* 294 (ATCC, 31446), *E. coli* B, *E. coli* λ 1776 (ATCC, 31537) и *E. coli* RV308 (ATCC, 31608). Эти примеры являются скорее иллюстративными, чем ограничивающими. Способы конструирования производных любых из вышеупомянутых бактерий, имеющих определенные генотипы, известны в данной области техники и описаны, например, в Bass

et al., *Proteins*, 8:309-314 (1990). Обычно необходимо выбирать подходящие бактерии, принимая во внимание воспроизводимость репликона в клетках бактерии. Например, виды *E. coli*, *Serratia* или *Salmonella* можно подходящим образом использовать в качестве хозяина, когда для доставки репликона используют хорошо известные плазмиды, такие как pBR322, pBR325, pACYC177 или pKN410. Обычно клетка-хозяин должна секретировать минимальные количества протеолитических ферментов, и в культуру клеток при необходимости могут быть включены дополнительные ингибиторы протеаз.

Получение маскированных цитокинов

[469] Клетки-хозяева трансформируют описанными выше векторами экспрессии и культивируют в обычных питательных средах, модифицированных в соответствии с требованиями для индукции промоторов, отбора трансформантов или амплификации генов, кодирующих необходимые последовательности.

[470] Трансформация означает введение ДНК в прокариотического хозяина таким образом, чтобы ДНК могла реплицироваться либо как внехромосомный элемент, либо с помощью хромосомного интегранта. В зависимости от используемой клетки-хозяина трансформацию проводят с помощью стандартных методик, подходящих для таких клеток. Обработка кальцием с использованием хлорида кальция обычно используется для бактериальных клеток, которые содержат значительные барьеры в виде клеточной стенки. В другом способе трансформации используется полиэтиленгликоль/DMSO. Еще одной используемой методикой является электропорация.

[471] Прокариотические клетки, используемые для продуцирования маскированных цитокинов по настоящему изобретению, выращивают в среде, известной в данной области техники и подходящей для культивирования выбранных клеток-хозяев. Примеры подходящей среды включают бульон Лурия (LB) вместе с необходимыми питательными добавками. В некоторых вариантах осуществления среда также содержит агент отбора, выбранный на основе конструкции вектора экспрессии для того, чтобы селективно позволять расти прокариотическим клеткам, содержащим вектор экспрессии. Например, ампициллин добавляют в среду для роста клеток, экспрессирующих ген устойчивости к ампициллину.

[472] Любые необходимые добавки, помимо источников углерода, азота и неорганического фосфора, также могут быть включены в соответствующих концентрациях, введенных отдельно или в смеси с другой добавкой или средой, такой как комплексный источник азота. Необязательно культуральная среда может содержать один или несколько восстанавливающих агентов, выбранных из группы, состоящей из глутатиона, цистеина, цистамина, тиогликолята, дитиоэритрита и дитиотреитола.

[473] Прокариотические клетки-хозяева культивируют при подходящих температурах. В определенных вариантах осуществления для роста *E. coli* температура роста находится в диапазоне от приблизительно 20°C до приблизительно 39 °C; от приблизительно 25°C до приблизительно 37 °C; или приблизительно 30 °C. pH среды может быть любым в диапазоне от приблизительно 5 до приблизительно 9, в зависимости,

главным образом, от организма-хозяина. В определенных вариантах осуществления для *E. coli* рН составляет от приблизительно 6,8 до приблизительно 7,4 или приблизительно 7,0.

[474] Если индуцируемый промотор используется в векторе экспрессии по настоящему изобретению, экспрессия белка индуцируется в условиях, подходящих для активации промотора. В одном аспекте настоящего изобретения промоторы *P_{hoA}* используются для контроля транскрипции полипептидов. Соответственно, трансформированные клетки-хозяева культивируют в фосфат-лимитирующей среде для индукции. В определенных вариантах осуществления фосфат-лимитирующая среда представляет собой среду *S.R.A.P.* (см., например, Simmons et al., *J. Immunol. Methods* (2002), 263:133-147). В зависимости от применяемой векторной конструкции можно использовать множество других индукторов, как известно в данной области техники.

[475] В одном варианте осуществления экспрессированные маскированные цитокины по настоящему изобретению секретируются в периплазму клеток-хозяев и выделяются из нее. Извлечение белка обычно включает разрушение микроорганизма, как правило, такими способами, как осмотический шок, обработка ультразвуком или лизис. После разрушения клеток остатки клеток или целые клетки могут быть удалены центрифугированием или фильтрацией. Белки могут быть дополнительно очищены, например, с помощью хроматографии на аффинной смоле. В качестве альтернативы белки можно транспортировать в культуральную среду и выделять в ней. Клетки можно удалять из культуры, а супернатант культуры отфильтровывать и концентрировать для дальнейшей очистки продуцируемых белков. Экспрессируемые полипептиды могут быть дополнительно выделены и идентифицированы с использованием общеизвестных способов, таких как электрофорез в полиакриламидном геле (*PAGE*) и вестерн-блоттинг.

[476] В одном аспекте настоящего изобретения продуцирование маскированных цитокинов в больших количествах проводят в процессе ферментации. Для получения рекомбинантных белков доступны различные процедуры промышленной ферментации с периодической подпиткой. Промышленные ферментеры имеют емкость, по меньшей мере, 1000 литров, а в некоторых вариантах осуществления от приблизительно 1000 до 100000 литров. В этих ферментерах используются лопастные мешалки для распределения кислорода и питательных веществ, особенно глюкозы. Ограниченная ферментация обычно относится к ферментации в ферментере с объемной емкостью не более примерно 100 литров и может составлять от приблизительно 1 литра до приблизительно 100 литров.

[477] В процессе ферментации индукция экспрессии белка обычно инициируется после того, как клетки были выращены в подходящих условиях до необходимой плотности, например, *OD₅₅₀*, составляющей приблизительно 180-220, на этой стадии клетки находятся в ранней стационарной фазе. В зависимости от применяемой векторной конструкции можно использовать множество индукторов, как известно в данной области техники и описано выше. Перед индукцией клетки можно выращивать в течение более коротких периодов времени. Клетки обычно индуцируют в течение приблизительно 12-50 часов, хотя можно использовать более длительное или более короткое время индукции.

[478] Для повышения выхода продукции и качества полипептидов по настоящему изобретению, можно изменять различные условия ферментации. Например, для улучшения надлежащей сборки и укладки, например, секретлируемых полипептидов антител, дополнительные векторы, сверхэкспрессирующие белки-шапероны, такие как белки Dsb (DsbA, DsbB, DsbC, DsbD и/или DsbG) или FkpA (пептидилпролил цис, транс-изомераза с шаперонной активностью), могут быть использованы для котрансформации прокариотических клеток-хозяев. Было продемонстрировано, что белки-шапероны способствуют надлежащей укладке и растворимости гетерологичных белков, продуцируемых в бактериальных клетках-хозяевах. Chen et al. (1999) *J. Biol. Chem.* 274:19601-19605; Georgiou et al., патент США № 6083715; Georgiou et al., патент США № 6027888; Bothmann and Pluckthun (2000) *J. Biol. Chem.* 275:17100-17105; Ramm and Pluckthun (2000) *J. Biol. Chem.* 275:17106-17113; Arie et al. (2001) *Mol. Microbiol.* 39:199-210.

[479] Для сведения к минимуму протеолиза экспрессированных гетерологичных белков (особенно тех, которые протеолитически чувствительны), в настоящем изобретении можно использовать определенные штаммы-хозяева с недостаточностью протеолитических ферментов. Например, штаммы клеток-хозяев могут быть модифицированы для воздействия на генетическую (генетические) мутацию (мутации) в генах, кодирующих известные бактериальные протеазы, такие как протеаза III, OmpT, DegP, Tsp, протеаза I, протеаза Mi, протеаза V, протеаза VI и их комбинации. Некоторые штаммы *E. coli* с недостаточностью протеазы доступны и описаны, например, в Joly et al. (1998), выше; Georgiou et al., патенте США № 5264365; Georgiou et al., патенте США № 5508192; Hara et al., *Microbial Drug Resistance*, 2:63-72 (1996).

[480] В некоторых вариантах осуществления штаммы *E. coli* с недостаточностью протеолитических ферментов и трансформированные плазмидами, сверхэкспрессирующими один или несколько шапероновых белков, используются в качестве клеток-хозяев в системе экспрессии по настоящему изобретению.

Очистка маскированных цитокинов

[481] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, продуцируемый в настоящем документе, дополнительно очищают для получения препаратов, которые являются по сути гомогенными для дальнейших анализов и путей применения. Могут быть использованы стандартные способы очистки белков, известные в данной области техники. Следующие процедуры являются примерами подходящих процедур очистки: фракционирование на иммуноаффинных или ионообменных колонках, осаждение этанолом, HPLC с обращенной фазой, хроматография на диоксиде кремния или на катионообменной смоле, такой как DEAE, хроматофокусирование, SDS-PAGE, осаждение сульфатом аммония и гель-фильтрация с использованием, например, Sephadex G-75.

[482] В некоторых вариантах осуществления белок А, иммобилизованный на твердой фазе, используют для иммуноаффинной очистки маскированных цитокинов по

настоящему изобретению. Белок А представляет собой белок клеточной стенки с молекулярной массой 41 кДа из *Staphylococcus aureus*, который с высокой аффинностью связывается с Fc-областью антител. Lindmark et al (1983) *J. Immunol. Meth.* 62:1-13. Твердая фаза, на которой иммобилизован белок А, может представлять собой колонку, содержащую поверхность из стекла или диоксида кремния, или стеклянную колонку с контролируемым размером пор, или колонку с кремниевой кислотой. В некоторых случаях колонка покрывается реагентом, например глицерином для того, чтобы предупредить неспецифическое прикрепление контаминантов.

[483] В качестве первой стадии очистки препарат, полученный из культуры клеток, как описано выше, может быть нанесен на твердую фазу с иммобилизованным белком А для того, чтобы обеспечить специфическое связывание маскированного цитокина, представляющего интерес, с белком А. Затем твердая фаза должна быть промыта для удаления контаминантов, неспецифически связанных с твердой фазой. Наконец, маскированный цитокин, представляющий интерес, выделяют из твердой фазы путем элюирования.

[484] Другие способы очистки, которые обеспечивают высокоаффинное связывание с компонентом маскированного цитокина, могут быть использованы в соответствии со стандартными способами очистки белков, известными в данной области техники.

2. Получение маскированных цитокинов с использованием эукариотических клеток-хозяев

[485] Вектор для использования в эукариотической клетке-хозяине обычно включает один или несколько из следующих неограничивающих компонентов: сигнальную последовательность, точку начала репликации, один или несколько маркерных генов, энхансерный элемент, промотор и последовательность терминации транскрипции.

Компонент сигнальной последовательности

[486] Вектор для использования в эукариотической клетке-хозяине может также содержать сигнальную последовательность или другой полипептид, имеющий специфический сайт расщепления на N-конце зрелого белка или полипептида, представляющих интерес. Выбранная гетерологичная сигнальная последовательность может представлять собой последовательность, которая распознается и подлежит процессингу (т.е., расщепляется сигнальной пептидазой) клеткой-хозяином. При экспрессии клеток млекопитающих доступны сигнальные последовательности млекопитающих, а также вирусные секреторные лидерные последовательности, например, сигнал gD простого герпеса. ДНК для такой области-предшественника лигируется в рамке считывания с ДНК, кодирующей маскированный цитокин.

Точка начала репликации

[487] Как правило, компонент точки начала репликации не требуется для векторов экспрессии млекопитающих. Например, точка начала репликации SV40 обычно можно

использоваться только потому, что она содержит ранний промотор.

Компонент селективного гена

[488] Векторы экспрессии и клонирования могут содержать селективный ген, также называемый селективным маркером. Типичные селективные гены кодируют белки, которые (а) придают устойчивость к антибиотикам или другим токсинам, например, ампициллину, неомицину, метотрексату или тетрациклину, (b) дополняют ауксотрофные виды недостаточности, при необходимости, или (с) поставляют важные питательные вещества, недоступные из сложных сред.

[489] В одном примере схемы отбора используется лекарственное средство для остановки роста клетки-хозяина. Те клетки, которые успешно трансформируются гетерологичным геном, продуцируют белок, придающий лекарственную устойчивость, и, таким образом, выживают в режиме отбора. Примеры такого доминантного отбора используют препараты неомицин, микофеноловую кислоту и гигромицин.

[490] Другим примером подходящих селектируемых маркеров для клеток млекопитающих являются те, которые позволяют идентифицировать клетки, способные поглощать маскированный цитокин, кодирующий нуклеиновую кислоту, такие как DHFR, тимидинкиназа, металлотioneин-I и -II, гены металлотioneина приматов, аденозиндезаминаза, орнитиндекарбоксилаза и др.

[491] Например, в некоторых вариантах осуществления клетки, трансформированные селективным геном DHFR, сначала идентифицируют путем культивирования всех трансформантов в культуральной среде, содержащей метотрексат (Mtx), конкурентный антагонист DHFR. В некоторых вариантах осуществления подходящей клеткой-хозяином при использовании DHFR дикого типа является линия клеток яичника китайского хомячка (CHO) с недостаточностью активности DHFR (например, ATCC CRL-9096).

[492] В качестве альтернативы клетки-хозяева (особенно хозяева дикого типа, которые содержат эндогенный DHFR), трансформированные или котрансформированные последовательностями ДНК, кодирующими маскированный цитокин, белок DHFR дикого типа и другой селектируемый маркер, такой как аминокликозид-3'-фосфотрансфераза (APH), может быть отобран путем роста клеток в среде, содержащей агент отбора для селектируемого маркера, такого как аминокликозидный антибиотик, например канамицин, неомицин или G418. См. патент США. № 4965199. Клетки-хозяева могут включать NS0, включая клеточные линии с недостаточностью глутаминсинтетазы (GS). Способы применения GS в качестве селективного маркера для клеток млекопитающих описаны в патенте США № 5122464 и патенте США. № 5891693.

Промоторный компонент

[493] Векторы экспрессии и клонирования обычно содержат промотор, который распознается организмом-хозяином и функционально связан с нуклеиновой кислотой, кодирующей маскированный цитокин, представляющий интерес, которым может быть любой маскированный цитокин, описанный в настоящем документе. Для эукариот

известны промоторные последовательности. Например, практически все эукариотические гены имеют область с высоким содержанием АТ, расположенную примерно на 25-30 оснований выше сайта, в котором начинается транскрипция. Другая последовательность, обнаруженная на расстоянии 70-80 оснований выше начала транскрипции многих генов, представляет собой область CNCAAT, при этом N может представлять собой любой нуклеотид. На 3'-конце большинства эукариотических генов находится последовательность AATAAA, которая может представлять собой сигнал для добавления поли-А-хвоста к 3'-концу кодирующей последовательности. В некоторых вариантах осуществления любая или все эти последовательности могут быть подходящим образом вставлены в эукариотические векторы экспрессии.

[494] Транскрипция векторов в клетках-хозяевах млекопитающих контролируется, например, промоторами, полученными из геномов вирусов, таких как вирус полиомы, вирус оспы птиц, аденовирус (такой как аденовирус 2), вирус папилломы крупного рогатого скота, вирус саркомы птиц, цитомегаловирус, ретровирус, вирус гепатита В и обезьяний вирус 40 (SV40), из гетерологичных промоторов млекопитающих, например, промотора актина или промотора иммуноглобулина, из промоторов генов теплового шока, при условии, что такие промоторы совместимы с системами клеток-хозяев.

[495] Ранний и поздний промоторы вируса SV40 удобно получать в виде рестрикционного фрагмента SV40, который также содержит точку репликации вируса SV40. Непосредственно ранний промотор цитомегаловируса человека удобно получать в виде рестрикционного фрагмента HindIII E. Система для экспрессии ДНК у млекопитающих-хозяев с использованием вируса папилломы крупного рогатого скота в качестве вектора раскрыта в патенте США № 4419446. Модификация этой системы описана в патенте США № 4601978. См. также работу Reyes et al., Nature 297:598-601 (1982), описывающую экспрессию кДНК человеческого β -интерферона в мышинных клетках под контролем промотора тимидинкиназы из вируса простого герпеса. В качестве альтернативы в качестве промотора можно использовать длинный концевой повтор вируса саркомы Рауса.

Компонент энхансерного элемента

[496] Транскрипция ДНК, кодирующей маскированный цитокин по настоящему изобретению, высшими эукариотами часто увеличивается в с помощью вставки энхансерной последовательности в вектор. В настоящее время известно множество энхансерных последовательностей генов млекопитающих (глобина, эластазы, альбумина, α -фетопротеина и инсулина). Однако обычно используют энхансер из вируса эукариотических клеток. Примеры включают энхансер SV40 на поздней стороне точки начала репликации (100-270 п.о.), энхансер раннего промотора цитомегаловируса человека, энхансер раннего промотора цитомегаловируса мыши, энхансер полиомы на поздней стороне точки начала репликации и энхансеры аденовируса. См. также работу Yaniv, Nature 297:17-18 (1982) (описывающую энхансерные элементы для активации эукариотических промоторов). Энхансер может быть сплайсирован в вектор в положении

5' или 3' по отношению к маскированной последовательности, кодирующей цитокин, но обычно он расположен в сайте в направлении 5' от промотора.

Компонент терминации транскрипции

[497] Векторы экспрессии, применяемые в эукариотических клетках-хозяевах, также могут содержать последовательности, необходимые для терминации транскрипции и стабилизации mRNA. Такие последовательности обычно доступны из 5'- и иногда 3'-нетранслируемых областей эукариотических или вирусных ДНК или cDNA. Эти области содержат нуклеотидные сегменты, транскрибируемые в виде полиаденилированных фрагментов в нетранслируемой части mRNA, кодирующей маскированный цитокин. Одним из пригодных компонентов терминации транскрипции является область полиаденилирования бычьего гормона роста. См. WO94/11026 и вектор экспрессии, раскрываемый в ней.

Отбор и трансформация клеток-хозяев

[498] Подходящие клетки-хозяева для клонирования или экспрессии ДНК в векторах в настоящем документе включают клетки высших эукариот, описанные в настоящем документе, включая клетки-хозяева позвоночных. Размножение клеток позвоночных в культуре (культуре ткани) стало рутинной процедурой. Примерами пригодных линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия клеток CV1 почек обезьяны, трансформированная SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); линия клеток эмбриональной почки человека (клетки 293 или 293, субклонированные для роста в суспензионной культуре, Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)); клетки почек детеныша хомячка (BHK, ATCC CCL 10); клетки яичника китайского хомячка/-DHFR (CHO, Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); клетки Сертоли мыши (TM4, Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)); клетки почек обезьяны (CV1 ATCC CCL 70); клетки почек африканской зеленой мартышки (VERO-76, ATCC CRL-1587); клетки карциномы шейки матки человека (HELA, ATCC CCL 2); клетки почек собаки (MDCK, ATCC CCL 34); клетки печени крысы линии Buffalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442); клетки легких человека (W138, ATCC CCL 75); клетки печени человека (Hep G2, HB 8065); клетки опухоли молочной железы мыши (MMT 060562, ATCC CCL51); клетки TRI (Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)); клетки MRC 5; клетки FS4; и линия клеток гепатомы человека (Hep G2).

[499] Клетки-хозяева трансформируют описанными выше векторами экспрессии или клонирования для продуцирования маскированных цитокинов и культивируют в обычных питательных средах, модифицированных в соответствии с требованиями для индукции промоторов, отбора трансформантов или амплификации генов, кодирующих необходимые последовательности.

Культивирование клеток-хозяев

[500] Клетки-хозяева, используемые для продуцирования маскированных цитокинов по настоящему изобретению, можно культивировать в различных средах. Для культивирования клеток-хозяев подходящими являются коммерчески доступные среды,

такие как среда Хэма F10 (Sigma), минимальная питательная среда ((MEM), Sigma), RPMI-1640 (Sigma) и модифицированная по Дульбекко среда Игла ((DMEM), Sigma). Кроме того, любая из сред, описанных в работах Ham et al., Meth. Enz. 58:44 (1979), Barnes et al., Anal. Biochem. 102:255 (1980), патентах США №№ 4767704; 4657866; 4927762; 4560655; или 5122469; WO 90/03430; WO 87/00195; или патенте США Re. 30985, может быть использована в качестве культуральной среды для клеток-хозяев. Любая из этих сред может быть при необходимости дополнена гормонами и/или другими факторами роста (такими как инсулин, трансферрин или эпидермальный фактор роста), солями (такими как хлорид натрия, кальций, магний и фосфат), буферами (такими как HEPES), нуклеотидами (такими как аденозин и тимидин), антибиотиками (такими как лекарственный препарат GENTAMYCIN™), микроэлементами (определяемыми как неорганические соединения, обычно присутствующие в конечных концентрациях в микромолярном диапазоне) и глюкозой или эквивалентным источником энергии. Любые другие добавки также могут быть включены в соответствующих концентрациях, которые известны специалистам в данной области техники. Условия культивирования, такие как температура, pH и т.п., являются теми, которые ранее использовались в связи с клеткой-хозяином, выбранной для экспрессии, и будут очевидны для специалиста в данной области техники.

Очистка маскированных цитокинов

[501] При использовании рекомбинантных методик маскированные цитокины могут продуцироваться внутриклеточно или непосредственно секретироваться в среду. Если маскированный цитокин продуцируется внутриклеточно, в качестве первой стадии остатки частиц, либо клетки-хозяева, либо лизированные фрагменты, могут быть удалены, например, центрифугированием или ультрафильтрацией. Когда маскированный цитокин секретировается в среду, супернатанты из таких систем экспрессии могут быть сначала сконцентрированы с использованием коммерчески доступного фильтра для концентрации белка, например, ультрафильтрационной установки Amicon или Millipore Pellicon. Ингибитор протеазы, такой как PMSF, может быть включен на любой из вышеупомянутых стадий для ингибирования протеолиза, а антибиотики могут быть включены для предупреждения роста случайных контаминантов.

[502] Композиция маскированных цитокинов, полученная из клеток, может быть очищена с использованием, например, хроматографии на гидроксилapatите, гель-электрофореза, диализа и аффинной хроматографии, при этом аффинная хроматография представляет собой удобную методику. Пригодность белка А в качестве аффинного лиганда зависит от вида и изоформа любого Fc-домена иммуноглобулина, если таковой имеется, который присутствует в маскированном цитокине. Белок А можно использовать для очистки антител на основе тяжелых цепях человеческого IgG1, IgG2 или IgG4 (Lindmark et al., J. Immunol. Methods 62:1-13 (1983)). Белок G рекомендуется для всех изоформ мыши и для $\gamma 3$ человека (Guss et al., EMBO J. 5:1567-1575 (1986)). Матрица, к которой присоединен аффинный лиганд, может представлять собой агарозу, однако доступны и другие матрицы. Механически стабильные матрицы, такие как стекло с

контролируемыми порами или поли(стиролдивинил)бензол, обеспечивают более высокие скорости потока и более короткое время обработки, чем может быть достигнуто с использованием агарозы. Если маскированный цитокин содержит СНЗ-домен, для очистки можно использовать смолу Bakerbond ABX™ (J. T. Baker, Филлипсбург, Нью-Джерси). Другие способы очистки белка, такие как фракционирование на ионообменной колонке, осаждение этанолом, HPLC с обращенной фазой, хроматография на диоксиде кремния, хроматография на гепарине SEPHAROSE™, хроматография на анионной или катионообменной смоле (такой как колонка с полиаспарагиновой кислотой), хроматофокусирование, SDS-PAGE и осаждение сульфатом аммония также доступны в зависимости от маскированного цитокина, который подлежит извлечению.

[503] После любой стадии предварительной очистки смесь, содержащая маскированный цитокин, представляющий интерес, и контаминанты, может быть подвергнута дополнительной очистке, например, с помощью хроматографии гидрофобного взаимодействия с низким значением рН с использованием буфера для элюирования при значении рН, составляющем приблизительно 2,5-4,5, выполняемой при низких концентрациях солей (например, приблизительно 0-0,25 М соли).

[504] В целом, различные методологии получения маскированных цитокинов для применения в исследованиях, тестировании и клиническом применении хорошо известны в данной области техники, согласуются с вышеописанными методологиями и/или считаются подходящими специалистами в данной области техники для конкретного маскированного цитокина, представляющего интерес.

Композиции

[505] В некоторых аспектах в настоящем документе также предложены композиции, содержащие любой из маскированных цитокинов, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит любой из иллюстративных вариантов осуществления маскированного цитокина, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит димер любого из маскированных цитокинов, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления композиция представляет собой фармацевтическую композицию. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит маскированный цитокин и дополнительно содержит один или несколько компонентов, как подробно описано ниже. Например, в некоторых вариантах осуществления композиция содержит один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей, стабилизаторов, буферов, консервантов, регуляторов тоничности, неионных поверхностно-активных веществ или детергентов, или других терапевтических средств или активных соединений, или их комбинаций. Различные варианты осуществления композиции иногда упоминаются в настоящем документе как составы.

[506] Терапевтические составы готовят для хранения путем смешивания активного ингредиента, имеющего необходимую степень чистоты, с необязательными фармацевтически приемлемыми носителями, наполнителями или стабилизаторами

(Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Pub., Gennaro Ed., Philadelphia, Pa. 2000). Приемлемые носители, наполнители или стабилизаторы нетоксичны для реципиентов в используемых дозах и концентрациях и включают буферы, антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту, метионин, витамин Е, метабисульфит натрия; консерванты, изотонизаторы, стабилизаторы, комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); хелатирующие средства, такие как EDTA и/или неионные поверхностно-активные вещества.

[507] Буферы можно использовать для регулирования pH в диапазоне, который оптимизирует терапевтическую эффективность, особенно если стабильность зависит от pH. Буферы могут присутствовать в концентрациях, находящихся в диапазоне от приблизительно 50 до приблизительно 250 мМ. Подходящие буферные средства для применения в настоящем изобретении включают как органические, так и неорганические кислоты и их соли. Например, цитрат, фосфат, сукцинат, тартрат, фумарат, глюконат, оксалат, лактат, ацетат. Кроме того, буферы могут состоять из солей гистидина и триметиламина, таких как Tris.

[508] Консерванты могут быть добавлены для предупреждения микробного роста, и обычно они присутствуют в диапазоне от приблизительно 0,2% до 1,0% (масс./об.). Примеры подходящих консервантов, обычно используемых с терапевтическими средствами, включают хлорид октадецилдиметилбензиламмония; гексаметония хлорид; галогениды бензалкония (например хлорид, бромид, йодид), хлорид бензетония; тимеросал, фенол, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил или пропилпарабен; катехол; резорцин; циклогексанол, 3-пентанол, м-крезол, о-крезол, пара-крезол, метил-пара-гидроксibenзоат, пропил-пара-гидроксibenзоат, 2-феноксietанол, бутил-пара-гидроксibenзоат, 2-фенилэтанол, этанол, хлорбутанол, тиомерсал, бронопол, бензойную кислоту, имидмочевину, хлоргексидин, дегидроацетат натрия, хлоркрезол, этил-п-гидроксibenзоат и хлорфенезин (3п-хлорфеноксипропан-1,2-диол).

[509] Регуляторы тоничности, иногда называемые «стабилизаторами», могут присутствовать для регулирования или поддержания тоничности жидкости в композиции. При использовании с большими заряженными биомолекулами, такими как белки и антитела, их часто называют «стабилизаторами», потому что они могут взаимодействовать с заряженными группами боковых цепей аминокислот, тем самым уменьшая возможность меж- и внутримолекулярных взаимодействий. Регуляторы тоничности могут присутствовать в любом количестве от приблизительно 0,1% до приблизительно 25% по массе или от приблизительно 1 до приблизительно 5% по массе, с учетом относительных количеств других ингредиентов. В некоторых вариантах осуществления регуляторы тоничности включают многоатомные сахарные спирты, трехатомные или высшие сахарные спирты, такие как глицерин, эритрит, арабит, ксилит, сорбит и маннит.

[510] Дополнительные наполнители включают средства, которые могут служить одним или несколькими из следующих: (1) объемообразующие вещества, (2) усилители

растворимости, (3) стабилизаторы и (4) и агенты, предупреждающие денатурацию или прикрепление к стенке контейнера. Такие наполнители включают: многоатомные сахарные спирты (перечисленные выше); аминокислоты, такие как аланин, глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин, лизин, орнитин, лейцин, 2-фенилаланин, глутаминовая кислота, треонин и т.д.; органические сахара или сахарные спирты, такие как сахароза, лактоза, лактитол, трегалоза, стахиоза, манноза, сорбоза, ксилоза, рибоза, рибитол, миоинизитоза, миоинизитол, галактоза, галактитол, глицерин, циклитолы (например инозитол), полиэтиленгликоль; серосодержащие восстановители, такие как мочевины, глутатион, тиоктовая кислота, тиогликолят натрия, тиоглицерин, α -монотиоглицерин и тиосульфат натрия; низкомолекулярный белки, такие как человеческий сывороточный альбумин, бычий сывороточный альбумин, желатин или другие иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; моносахариды (например ксилоза, манноза, фруктоза, глюкоза; дисахариды (например лактоза, мальтоза, сахароза); трисахариды, такие как рафиноза; и полисахариды, такие как декстрин или декстран.

[511] Могут присутствовать неионные поверхностно-активные вещества или детергенты (также известные как «смачивающие средства») для того, чтобы способствовать солюбилизации терапевтического средства, а также для защиты терапевтического белка от агрегации, вызванной смешиванием, что также позволяет составу подвергаться поверхностному напряжению сдвига без денатурации активного терапевтического белка или антитела. Неионные поверхностно-активные вещества присутствуют в диапазоне от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 1,0 мг/мл или от приблизительно 0,07 мг/мл до приблизительно 0,2 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления неионные поверхностно-активные вещества присутствуют в диапазоне от приблизительно 0,001% до приблизительно 0,1% масс./об., или от приблизительно 0,01% до приблизительно 0,1% масс./об., или от приблизительно 0,01% до приблизительно 0,025% масс./об.

[512] Подходящие неионные поверхностно-активные вещества включают полисорбаты (20, 40, 60, 65, 80 и т.д.), полиоксамеры (184, 188 и т.д.), полиолы PLURONIC®, TRITON®, сложные моноэфиры полиоксиэтиленсорбитана (TWEEN®-20, TWEEN® -80 и др.), лауромакрогол 400, полиоксил 40 стеарат, полиоксиэтилен-гидрогенизированное касторовое масло 10, 50 и 60, моностеарат глицерина, сложный эфир сахарозы и жирной кислоты, метилцеллюлозу и карбоксиметилцеллюлозу. Анионные детергенты, которые можно использовать, включают лаурилсульфат натрия, диоктилсульфосукцинат натрия и диоктилсульфонат натрия. Катионные детергенты включают хлорид бензалкония или хлорид бензетония.

[513] Для того, чтобы составы можно было использовать для введения *in vivo*, они должны быть стерильными. Состав можно сделать стерильным путем фильтрации через стерильные фильтрующие мембраны. Терапевтические композиции в настоящем документе обычно помещают в контейнер, имеющий порт для стерильного доступа,

например, пакет с раствором для внутривенного введения или флакон, имеющий пробку, которую можно проткнуть иглой для подкожных инъекций.

[514] Путь введения соответствует известным и принятым способам, таким как однократный или многократный болюс или инфузия в течение длительного периода времени подходящим способом, например, инъекция или инфузия подкожным, внутривенными, внутривенными, внутривенными, внутримышечными, внутриартериальными, внутрисуставными или внутрисуставными путями, путем местного введения, ингаляции или с помощью средств замедленного или пролонгированного высвобождения.

[515] Любой из маскированных цитокинов, описанных в настоящем документе, можно использовать отдельно или в комбинации с другими терапевтическими средствами, например, в способах, описанных в настоящем документе. Термин «в комбинации с» охватывает два или более терапевтических средства (например, маскированный цитокин и терапевтическое средство), которые включены в одни и те же или отдельные составы. В некоторых вариантах осуществления термин «в комбинации с» относится к «одновременному» введению, и в этом случае введение маскированного цитокина по настоящему изобретению происходит одновременно с введением одного или нескольких дополнительных терапевтических средств (например, в то же время или в пределах одного часа между введением (введениями) маскированного цитокина и введением одного или нескольких дополнительных терапевтических средств). В некоторых вариантах осуществления термин «в комбинации с» относится к последовательному введению, и в этом случае введение маскированного цитокина по настоящему изобретению происходит до и/или после введения одного или нескольких дополнительных терапевтических средств (например, более одного часа между введением (введениями) маскированного цитокина и введением одного или нескольких дополнительных терапевтических средств). Агенты, рассматриваемые в настоящем документе, включают, но не ограничиваются ими, цитотоксический агент, цитокин, агент, нацеленный на молекулу иммунной контрольной точки, агент, нацеленный на иммуностимулирующую молекулу, агент, ингибирующий рост, иммуностимулирующее средство, противовоспалительное средство или противораковое средство.

[516] Состав, описанный в настоящем документе, может также содержать более одного активного соединения, если необходимо для конкретного показания, подлежащего лечению, предпочтительно соединения с дополнительными видами активности, которые не влияют отрицательно друг на друга. В качестве альтернативы или в качестве дополнения композиция может содержать цитотоксический агент, цитокин, агент, нацеленный на молекулу иммунной контрольной точки или стимулирующую молекулу, агент, ингибирующий рост, иммуностимулирующий агент, противовоспалительное средство или противораковое средство. Такие молекулы обычно присутствуют в комбинации в количествах, эффективных для предполагаемой цели.

[517] Состав может быть представлен в любом подходящем состоянии, таком как жидкий состав, твердый (лиофилизированный) состав или замороженный состав.

Подходы к приготовлению каждого из этих типов составов для терапевтического применения хорошо известны в данной области техники.

Способы лечения

[518] В настоящем документе предложены способы лечения или предупреждения заболевания у субъекта, включающие введение субъекту эффективного количества любого маскированного цитокина, описанного в настоящем документе, или его композиций. В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения или предупреждения заболевания у субъекта, включающие введение субъекту эффективного количества маскированного цитокина. В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения или предупреждения заболевания у субъекта, включающие введение субъекту эффективного количества любого варианта маскированного цитокина, описанного в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения или предупреждения заболевания у субъекта, включающие введение субъекту любой композиции, описанной в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления субъекту (например, пациенту-человеку) был поставлен диагноз неопластического нарушения (например рака) или у него существует риск развития такого нарушения.

[519] Для предупреждения или лечения заболевания подходящая доза активного агента будет зависеть от типа заболевания, которое подлежит лечению, как определено в настоящем документе, тяжести и течения заболевания, независимо от того, вводится ли агент в профилактических или терапевтических целях, предшествующей терапии, анамнеза субъекта и реакции на агент, а также усмотрения лечащего врача. Агент подходящим образом вводят субъекту в течение одного раза или в течение ряда курсов лечения.

[520] В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в настоящем документе, интервал между введениями маскированного цитокина, описанного в настоящем документе, составляет приблизительно одну неделю или дольше. В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в настоящем документе, интервал между введениями маскированного цитокина, описанного в настоящем документе, составляет приблизительно два дня или дольше, приблизительно три дня или дольше, приблизительно четыре дня или дольше, приблизительно пять дней или дольше или приблизительно шесть дней или дольше. В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в настоящем документе, интервал между введениями маскированного цитокина, описанного в настоящем документе, составляет приблизительно одну неделю или дольше, приблизительно две недели или дольше, приблизительно три недели или дольше или приблизительно четыре недели или дольше. В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в настоящем документе, интервал между введениями маскированного цитокина, описанного в настоящем документе, составляет приблизительно один месяц или дольше, приблизительно два месяца или дольше или приблизительно три месяца или дольше. В контексте настоящего документа интервал

между введениями относится к периоду времени между одним введением маскированного цитокина и следующим введением маскированного цитокина. В контексте настоящего документа интервал приблизительно в один месяц включает четыре недели. В некоторых вариантах осуществления лечение включает многократные введения маскированного цитокина, при этом интервал между введениями может варьироваться. Например, в некоторых вариантах осуществления интервал между первым введением и вторым введением составляет приблизительно одну неделю, а интервалы между последующими введениями составляют приблизительно две недели. В некоторых вариантах осуществления интервал между первым введением и вторым введением составляет приблизительно два дня, три дня, четыре дня, или пять дней или шесть дней, а интервалы между последующими введениями составляют приблизительно одну неделю.

[521] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин вводят несколько раз в течение определенного периода времени. Доза, которую вводят субъекту несколько раз, в некоторых вариантах осуществления может представлять собой одинаковую дозу для каждого введения, или, в некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин можно вводить субъекту в двух или более разных дозах. Например, в некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин первоначально вводят в одной дозе один или несколько раз, и затем вводят во второй дозе один или несколько раз, начиная с более позднего момента времени.

[522] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, описанный в настоящем документе, вводят в фиксированной дозе. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в дозе от приблизительно 25 мг до приблизительно 500 мг на дозу. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин вводят субъекту в дозе от приблизительно 25 мг до приблизительно 50 мг, от приблизительно 50 мг до приблизительно 75 мг, от приблизительно 75 мг до приблизительно 100 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 125 мг, от приблизительно 125 мг до приблизительно 150 мг, от приблизительно 150 мг до приблизительно 175 мг, от приблизительно 175 мг до приблизительно 200 мг, от приблизительно 200 мг до приблизительно 225 мг, от приблизительно 225 мг до приблизительно 250 мг, от приблизительно 250 мг до приблизительно 275 мг, от приблизительно 275 мг до приблизительно 300 мг, от приблизительно 300 мг до приблизительно 325 мг, от приблизительно 325 мг до приблизительно 350 мг, от приблизительно 350 мг до приблизительно 375 мг, от приблизительно 375 мг до приблизительно 400 мг, от приблизительно 400 мг до приблизительно 425 мг, от приблизительно 425 мг до приблизительно 450 мг, от приблизительно 450 мг, до приблизительно 475 мг или от приблизительно 475 мг до приблизительно 500 мг на дозу.

[523] В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в дозе, основанной на массе тела субъекта или площади поверхности тела (BSA). В зависимости от типа и тяжести заболевания от

приблизительно 1 мкг/кг до 15 мг/кг (например, 0,1 мг/кг-10 мг/кг) маскированного цитокина может представлять собой начальную дозу кандидата для введения пациенту, например, с помощью одного или нескольких отдельных введений или с помощью непрерывной инфузии. Одна типичная суточная доза может находиться в диапазоне от приблизительно 1 мкг/кг до 100 мг/кг или более, в зависимости от факторов, упомянутых выше. При повторных введениях в течение нескольких дней или дольше, в зависимости от состояния, лечение обычно будет продолжаться до тех пор, пока не произойдет необходимое подавление симптомов заболевания. Одна иллюстративная доза маскированного цитокина может находиться в диапазоне от приблизительно 0,05 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг. Таким образом, пациенту можно вводить одну или несколько доз по приблизительно 0,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 4,0 мг/кг или 10 мг/кг (или любую их комбинацию). В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в дозе от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг или от приблизительно 1,0 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в любой дозе из приблизительно 0,1 мг/кг, 0,5 мг/кг, 1,0 мг/кг, 1,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 2,5 мг/кг, 3,0 мг/кг, 3,5 мг/кг, 4,0 мг/кг, 4,5 мг/кг, 5,0 мг/кг, 5,5 мг/кг, 6,0 мг/кг, 6,5 мг/кг, 7,0 мг/кг, 7,5 мг/кг, 8,0 мг/кг, 8,5 мг/кг, 9,0 мг/кг, 9,5 мг/кг или 10,0 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления маскированный цитокин, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в дозе приблизительно или по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 1,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 2,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 3,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 3,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 4,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 4,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 5,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 5,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 6,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 6,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 7,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 7,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 8,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 8,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 9,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 9,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 10,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 15,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 20 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 30 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 40 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 50 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 60 мг/кг, приблизительно или по

меньшей мере приблизительно 70 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 80 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 90 мг/кг или приблизительно или по меньшей мере приблизительно 100 мг/кг. Можно применять любую из описанных выше частот введения препарата.

[524] В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид ПЛ-2, описанный в настоящем документе, вводят в фиксированной дозе. В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид ПЛ-2, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в дозе от приблизительно 25 мг до приблизительно 500 мг на дозу. В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид ПЛ-2 вводят субъекту в дозе от приблизительно 25 мг до приблизительно 50 мг, от приблизительно 50 мг до приблизительно 75 мг, от приблизительно 75 мг до приблизительно 100 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 125 мг, от приблизительно 125 мг до приблизительно 150 мг, от приблизительно 150 мг до приблизительно 175 мг, от приблизительно 175 мг до приблизительно 200 мг, от приблизительно 200 мг до приблизительно 225 мг, от приблизительно 225 мг до приблизительно 250 мг, от приблизительно 250 мг до приблизительно 275 мг, от приблизительно 275 мг до приблизительно 300 мг, от приблизительно 300 мг до приблизительно 325 мг, от приблизительно 325 мг до приблизительно 350 мг, от приблизительно 350 мг до приблизительно 375 мг, от приблизительно 375 мг до приблизительно 400 мг, от приблизительно 400 мг до приблизительно 425 мг, от приблизительно 425 мг до приблизительно 450 мг, от приблизительно 450 мг до приблизительно 475 мг или от приблизительно 475 мг до приблизительно 500 мг на дозу.

[525] В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид ПЛ-2, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в дозе, основанной на массе тела субъекта или площади поверхности тела (BSA). В зависимости от типа и тяжести заболевания от приблизительно 1 мкг/кг до 15 мг/кг (например, 0,1 мг/кг-10 мг/кг) маскированного полипептида ПЛ-2 может представлять собой начальную дозу кандидата для введения пациенту, например, с помощью одного или нескольких отдельных введений или с помощью непрерывной инфузии. Одна типичная суточная доза может находиться в диапазоне от приблизительно 1 мкг/кг до 100 мг/кг или более, в зависимости от факторов, упомянутых выше. При повторных введениях в течение нескольких дней или дольше, в зависимости от состояния, лечение обычно будет продолжаться до тех пор, пока не произойдет необходимое подавление симптомов заболевания. Одна иллюстративная доза маскированного полипептида ПЛ-2 может находиться в диапазоне от приблизительно 0,05 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг. Таким образом, пациенту можно вводить одну или несколько доз по приблизительно 0,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 4,0 мг/кг или 10 мг/кг (или любую их комбинацию). В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид ПЛ-2, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в дозе от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг или от приблизительно 1,0 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид ПЛ-2, описанный в

настоящем документе, вводят субъекту в любой дозе из приблизительно 0,1 мг/кг, 0,5 мг/кг, 1,0 мг/кг, 1,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 2,5 мг/кг, 3,0 мг/кг, 3,5 мг/кг, 4,0 мг/кг, 4,5 мг/кг, 5,0 мг/кг, 5,5 мг/кг, 6,0 мг/кг, 6,5 мг/кг, 7,0 мг/кг, 7,5 мг/кг, 8,0 мг/кг, 8,5 мг/кг, 9,0 мг/кг, 9,5 мг/кг или 10,0 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид ПЛ-2, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в дозе приблизительно или по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 1,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 2,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 3,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 3,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 4,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 4,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 5,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 5,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 6,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 6,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 7,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 7,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 8,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 8,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 9,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 9,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 10,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 15,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 20 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 30 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 40 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 50 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 60 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 70 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 80 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 90 мг/кг или приблизительно или по меньшей мере приблизительно 100 мг/кг. Можно применять любую из описанных выше частот введения препарата.

[526] В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид ПЛ-15, описанный в настоящем документе, вводят в фиксированной дозе. В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид ПЛ-15, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в дозе от приблизительно 25 мг до приблизительно 500 мг на дозу. В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид ПЛ-15 вводят субъекту в дозе от приблизительно 25 мг до приблизительно 50 мг, от приблизительно 50 мг до приблизительно 75 мг, от приблизительно 75 мг до приблизительно 100 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 125 мг, от приблизительно 125 мг до приблизительно 150 мг, от приблизительно 150 мг до приблизительно 175 мг, от приблизительно 175 мг до приблизительно 200 мг, от приблизительно 200 мг до приблизительно 225 мг, от приблизительно 225 мг до приблизительно 250 мг, от

приблизительно 250 мг до приблизительно 275 мг, от приблизительно 275 мг до приблизительно 300 мг, от приблизительно 300 мг до приблизительно 325 мг, от приблизительно 325 мг до приблизительно 350 мг, от приблизительно 350 мг до приблизительно 375 мг, от приблизительно 375 мг до приблизительно 400 мг, от приблизительно 400 мг до приблизительно 425 мг, от приблизительно 425 мг до приблизительно 450 мг, от приблизительно 450 мг, до приблизительно 475 мг или от приблизительно 475 мг до приблизительно 500 мг на дозу.

[527] В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид П-15, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в дозе, основанной на массе тела субъекта или площади поверхности тела (BSA). В зависимости от типа и тяжести заболевания от приблизительно 1 мкг/кг до 15 мг/кг (например, 0,1 мг/кг-10 мг/кг) маскированного полипептида П-15 может представлять собой начальную дозу кандидата для введения пациенту, например, с помощью одного или нескольких отдельных введений или с помощью непрерывной инфузии. Одна типичная суточная доза может находиться в диапазоне от приблизительно 1 мкг/кг до 100 мг/кг или более, в зависимости от факторов, упомянутых выше. При повторных введениях в течение нескольких дней или дольше, в зависимости от состояния, лечение обычно будет продолжаться до тех пор, пока не произойдет необходимое подавление симптомов заболевания. Таким образом, пациенту можно вводить одну или несколько доз по приблизительно 0,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 4,0 мг/кг или 10 мг/кг (или любую их комбинацию). В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид П-15, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в дозе от приблизительно 25 мг до приблизительно 500 мг на дозу. В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид П-15, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в дозе от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг или от приблизительно 1,0 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид П-15, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в любой дозе из приблизительно 0,1 мг/кг, 0,5 мг/кг, 1,0 мг/кг, 1,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 2,5 мг/кг, 3,0 мг/кг, 3,5 мг/кг, 4,0 мг/кг, 4,5 мг/кг, 5,0 мг/кг, 5,5 мг/кг, 6,0 мг/кг, 6,5 мг/кг, 7,0 мг/кг, 7,5 мг/кг, 8,0 мг/кг, 8,5 мг/кг, 9,0 мг/кг, 9,5 мг/кг или 10,0 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления маскированный полипептид П-15, описанный в настоящем документе, вводят субъекту в дозе приблизительно или по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 1,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 2,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 3,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 3,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 4,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 4,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 5,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 5,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере

приблизительно 6,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 6,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 7,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 7,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 8,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 8,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 9,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 9,5 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 10,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 15,0 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 20 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 30 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 40 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 50 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 60 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 70 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 80 мг/кг, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 90 мг/кг или приблизительно или по меньшей мере приблизительно 100 мг/кг. Можно применять любую из описанных выше частот введения препарата.

[528] Способ лечения, рассматриваемый в настоящем документе, представляет собой лечение нарушения или заболевания с помощью любого из маскированных цитокинов или композиций, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления в способе лечения применяется любой маскированный полипептид П-2, описанный в настоящем документе, или любой маскированный полипептид П-15, описанный в настоящем документе, или любая из композиций, содержащих маскированный цитокин, описанный в настоящем документе. Нарушения или заболевания, которые поддаются лечению с помощью составов по настоящему изобретению, включают лейкоз, лимфому, рак головы и шеи, колоректальный рак, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, меланому, рак молочной железы, нейробластому, рак легких, рак яичников, остеосаркому, рак мочевого пузыря, рак шейки матки, рак печени, рак почек, рак кожи (например, карциному из клеток Меркеля) или рак яичек.

[529] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ лечения или предупреждения рака с помощью введения любых маскированных цитокинов или композиций, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ лечения или предупреждения рака с помощью введения маскированного полипептида П-2 или маскированного полипептида П-15, или любой из композиций, содержащих маскированный цитокин, описанных в настоящем документе. В контексте настоящего документа термин «рак» относится ко всем типам рака, новообразованиям или злокачественным опухолям, встречающимся у млекопитающих, включая лейкозы, лимфомы, меланомы, нейроэндокринные опухоли, карциномы и саркомы. Иллюстративные виды рака, которые можно лечить с помощью маскированного цитокина, фармацевтической композиции или способа, предложенных в настоящем документе, включают лимфом, саркому, рак

мочевого пузыря, рак костей, опухоль головного мозга, рак шейки матки, рак толстой кишки, рак пищевода, рак желудка, рак головы и шеи, рак почки, миелому, рак щитовидной железы, лейкоз, рак предстательной железы, рак молочной железы (например трижды негативный, ER-позитивный, ER-негативный, резистентный к химиотерапии, резистентный к герцептину, HER2-позитивный, резистентный к доксорубину, резистентный к тамоксифену, протоковую карциному, лобулярную карциному, первичную, метастатическую), рак яичников, рак поджелудочной железы, рак печени (например гепатоцеллюлярную карциному), рак легких (например немелкоклеточную карциному легкого, плоскоклеточную карциному легкого, аденокарциному, крупноклеточную карциному легкого, мелкоклеточную карциному легкого, карциноид, саркому), мультиформную глиобластому, глиому, меланому, рак предстательной железы, устойчивый к кастрации рак предстательной железы, рак молочной железы, трижды негативный рак молочной железы, глиобластому, рак яичников, рак легких, плоскоклеточный рак (например рак головы, шеи или пищевода), колоректальный рак, лейкоз, острый миелоидный лейкоз, лимфому, В-клеточную лимфому или множественную миелому. Дополнительные примеры включают рак щитовидной железы, эндокринной системы, головного мозга, молочной железы, шейки матки, толстой кишки, головы и шеи, пищевода, печени, почки, легкого, немелкоклеточный рак легких, меланому, мезотелиому, рак яичников, саркому, рак желудка, рак матки или медуллобластому, болезнь Ходжкина, неходжкинскую лимфому, множественную миелому, нейробластому, глиому, мультиформную глиобластому, рак яичников, рабдомиосаркому, первичный тромбоцитоз, первичную макроглобулинемию, первичные опухоли головного мозга, злокачественную инсулиному поджелудочной железы, злокачественный карциноид, рак мочевого пузыря, предраковые поражения кожи, рак яичек, лимфомы, рак щитовидной железы, нейробластому, рак пищевода, рак мочеполовых путей, злокачественную гиперкальциемию, рак эндометрия, рак коры надпочечников, новообразования эндокринной или экзокринной части поджелудочной железы, медулярный рак щитовидной железы, медулярную карциному рак щитовидной железы, меланому, колоректальный рак, папиллярный рак щитовидной железы, гепатоцеллюлярную карциному, болезнь Педжета, филоидные опухоли, дольчатую карциному, протоковую карциному, рак звездчатых клеток поджелудочной железы, рак звездчатых клеток печени или рак предстательной железы.

[530] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ лечения или предупреждения лейкоза с помощью введения любого маскированного цитокина или композиции, описанных в настоящем документе. Термин «лейкоз» в широком смысле относится к прогрессирующим злокачественным заболеваниям кроветворных органов и обычно характеризуется нарушенной пролиферацией и развитием лейкоцитов и их предшественников в крови и костном мозге. Лейкоз обычно классифицируют на основании (1) продолжительности и характера заболевания - острый или хронический; (2) типа вовлеченной клетки; миелоидный

(миелогенный), лимфоидный (лимфогенный) или моноцитарный; и (3) повышения или отсутствия повышения количества аномальных клеток в крови - лейкоэмических или нелейкемических (сублейкемических). Иллюстративные виды лейкозов, которые можно лечить с помощью соединения, фармацевтической композиции или способа, предложенных в настоящем документе, включают, например, острый нелимфоцитарный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, острый гранулоцитарный лейкоз, хронический гранулоцитарный лейкоз, острый промиелоцитарный лейкоз, Т-клеточный лейкоз взрослых, нелейкемический лейкоз, лейкоцитемический лейкоз, базофильный лейкоз, лейкоз бластных клеток, лейкоз крупного рогатого скота, хронический миелоцитарный лейкоз, кожный лейкоз, эмбриональный лейкоз, эозинофильный лейкоз, лейкоз Гросса, волосатоклеточный лейкоз, гемоцитобластный лейкоз, гистиоцитарный лейкоз, лейкоз стволовых клеток, острый моноцитарный лейкоз, лейкопенический лейкоз, лимфатический лейкоз, лимфобластный лейкоз, лимфоцитарный лейкоз, лимфогенный лейкоз, лимфоидный лейкоз, лейкоз клеток лимфосаркомы, тучноклеточный лейкоз, мегакариоцитарный лейкоз, микромиелобластный лейкоз, моноцитарный лейкоз, миелобластный лейкоз, миелоцитарный лейкоз, лейкоз Негели, лейкоз плазматических клеток, множественную миелому, плазмоцитарный лейкоз, промиелоцитарный лейкоз, лейкоз клеток Ридера, лейкоз Шиллинга, лейкоз стволовых клеток, сублейкемический лейкоз или недифференцированный лейкоз клеток.

[531] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ лечения или предупреждения саркомы с помощью введения любого маскированного цитокина или композиции, описанных в настоящем документе. Термин «саркома» обычно относится к опухоли, которая состоит из вещества, подобного эмбриональной соединительной ткани, и обычно состоит из плотно упакованных клеток, заключенных в фибриллярное или гомогенное вещество. Саркомы, которые можно лечить с помощью соединения, фармацевтической композиции или способа, предложенных в настоящем документе, включают хондросаркому, фибросаркому, лимфосаркому, меланосаркому, миксосаркому, остеосаркому, саркому Абемети, саркому жировой ткани, липосаркому, альвеолярную саркому мягкой части, амелобластную саркому, ботриоидную саркому, саркому типа хлоромы, хориокарциному, эмбриональную саркому, саркому при опухоли Вильмса, саркому эндометрия, стромальную саркому, саркому Юинга, фасциальную саркому, фибробластическую саркому, гигантоклеточную саркому, гранулоцитарную саркому, саркому Ходжкина, идиопатическую множественную пигментную геморрагическую саркому, иммунобластную саркому В-клеток, лимфому, иммунобластную саркому Т-клеток, саркому Дженсена, саркому Капоши, саркому клеток Купфера, ангиосаркому, лейкосаркому, злокачественную саркому типа мезенхимомы, паростеальную саркому, ретикулоцитарную саркому, саркому Рауса, сероцистическую саркому, синовиальную саркому или телеангиэктатическую саркому.

[532] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ лечения или предупреждения меланомы с помощью введения любого

маскированного цитокина или композиции, описанных в настоящем документе. Термин «меланома» означает опухоль, возникающую из меланоцитарной системы кожи и других органов. Меланомы, которые можно лечить с помощью соединения, фармацевтической композиции или способа, предложенных в настоящем документе, включают, например, акральную лентигозную меланому, амеланотическую меланому, доброкачественную ювенильную меланому, меланому Клаудмана, меланому S91, меланому Хардинга-Пасси, ювенильную меланому, меланому типа злокачественного лентиго, злокачественную меланому, узловую меланому, подногтевую меланому или меланому поверхностного распространения.

[533] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ лечения или предупреждения карциномы с помощью введения любого маскированного цитокина или композиции, описанных в настоящем документе. Термин «карцинома» относится к злокачественному новообразованию, состоящему из эпителиальных клеток, которые имеют тенденцию проникать в окружающие ткани и вызывать метастазы. Примеры карцином, которые можно лечить с помощью соединения, фармацевтической композиции или способа, предложенных в настоящем документе, включают, например медуллярную карциному щитовидной железы, семейную медуллярную карциному щитовидной железы, ацинарную карциному, ацинозную карциному, аденоцистную карциному, аденоидно-кистозную карциному, аденоматозную карциному, карциному коры надпочечников, альвеолярную карциному, альвеолярно-клеточную карциному, базальноклеточную карциному, базоцеллюлярную карциному, базалоидную карциному, базосквамозную карциному, бронхоальвеолярную карциному, бронхиолярную карциному, бронхогенную карциному, церебриформную карциному, холангиоцеллюлярную карциному, хорионическую карциному, коллоидную карциному, карциному комедонного типа, карциному тела матки, крибриформную карциному, карциному *en cuirasse*, карциному кожи, цилиндрическую карциному, карциному цилиндрических клеток, протоковую карциному, карциному протоков, карциному твердой оболочки, эмбриональная карцинома, карцинома протоков, карцинома твердой оболочки, эмбриональную карциному, энцефалоидную карциному, эпидермоидную карциному, карциному эпителия аденоидов, экзофитную карциному, карцинома *ex ulcere*, фиброзную карциному, желатиноформную карциному, студенистую карциному, гигантоклеточную карциному, карциному гигантских клеток, железистую карциному, гранулезно-клеточную карциному, карциному матрикса волос, гематоидную карцинома, гепатоцеллюлярную карциному, карциному из клеток Гуртла, гиалиновую карциному, гипернефроидную карциному, инфантильную эмбриональную карциному, карциному *in situ*, внутриэпидермальную карциному, интраэпителиальную карциному, карциному Кромпечера, карцинома из клеток Кульчицкого, крупноклеточную карциному, ленточную карциному, лентикулярную карциному, липоматозную карциному, лобулярную карциному, лимфоэпителиальную карциному, медуллярную карциному, мозговидную карциному, меланотическую карциному, карциному Молла, муцинозную карциному,

муципарную карциному, мукоцеллюлярную карциному, мукоэпидермоидную карциному, карциному слизистых, слизистую карциному, миксоматодную карциному, носоглоточную карциному, овсяноклеточную карциному, оссифицирующую карциному, остеоидную карциному, папиллярную карциному, перипортальную карциному, преинвазивную карциному, карциному шипцовых клеток, слизеобразующую карциному, почечно-клеточную карциному почки, карциному резервных клеток, саркомоподобную карциному, карциному слизистой оболочки носа, скиррозную карциному, карциному мошонки, перстневидно-клеточную карциному, простую карциному, мелкоклеточную карциному, соланоидную карциному, сфероидоклеточную карциному, веретенклеточную карциному, губчатую карциному, плоскоклеточную карциному, карцинома плоских клеток, нитчатую карциному, телеангиэктатическую карциному, телеангиэктоидную карциному, переходно-клеточную карциному, туберозную карциному, тубулярную карциному, туберозную карциному, веррукозную карциному или волосистую карциному.

[534] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ лечения или предупреждения метастатического рака с помощью введения любого маскированного цитокина или композиции, описанных в настоящем документе. В контексте настоящего документа термины «метастаз», «метастатический» и «метастатический рак» могут использоваться взаимозаменяемо и относиться к распространению неопластического заболевания или нарушения, например рака, из одного органа или другого несмежного органа или части тела. Рак возникает в очаге происхождения, например, в молочной железе, который называется первичной опухолью, например первичным раком молочной железы. Некоторые раковые клетки в первичной опухоли или очаге происхождения приобретают способность проникать в окружающие нормальные ткани в локальной области и инфильтрировать их и/или способность проникать через стенки лимфатической системы или сосудистой системы, циркулируя через эту систему в другие участки и ткани в организме. Вторая клинически определяемая опухоль, образованная из раковых клеток первичной опухоли, называется метастатической или вторичной опухолью. При метастазировании раковых клеток предполагается, что метастатическая опухоль и ее клетки подобны таковым исходной опухоли. Таким образом, если рак легких метастазирует в молочную железу, вторичная опухоль в области молочной железы состоит из аномальных клеток легких, а не из аномальных клеток молочной железы. Вторичная опухоль в молочной железе относится к метастатическому раку легких. Таким образом, фраза «метастатический рак» относится к заболеванию, при котором субъект имеет или имел первичную опухоль и одну или несколько вторичных опухолей. Фразы неметастатический рак или субъекты с неметастатическим раком относятся к заболеваниям, при которых у субъектов имеется первичная опухоль, но ни одной или нескольких вторичных опухолей. Например, метастатический рак легкого относится к заболеванию у субъекта с первичной опухолью легкого или с анамнезом первичной опухоли легкого и с одной или несколькими вторичными опухолями во втором очаге или нескольких очагах, например, в молочной

железе.

[535] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ лечения или предупреждения рака с помощью введения любого маскированного цитокина или композиции, описанной в настоящем документе, в комбинации с противораковым средством. Противораковое средство может представлять собой любое средство, способное уменьшать опухолевый рост, препятствовать репликации раковых клеток, прямо или косвенно уничтожать раковые клетки, ослаблять метастазирование, ослаблять кровоснабжение опухоли или снижать выживаемость клеток. В некоторых вариантах осуществления противораковое средство выбирают из группы, состоящей из ингибитора PD-1, ингибитора EGFR, ингибитора HER2, ингибитора VEGFR, ингибитора CTLA-4, ингибитора BTLA, ингибитора B7H4, ингибитора B7H3, ингибитора CSF1R, ингибитора HVEM, ингибитора CD27, ингибитора KIR, ингибитора NKG2A, агониста NKG2D, ингибитора TWEAK, ингибитора ALK, антитела, нацеливающегося на CD52, антитела, нацеливающегося на CCR4, ингибитора PD-L1, ингибитора KIT, ингибитора PDGFR, ингибитора BAFF, ингибитора HDAC, ингибитора лиганда VEGF, молекулы, нацеливающейся на CD19, молекулы, нацеливающейся на FOLR1, молекулы, нацеливающейся на DLL3, молекулы, нацеливающейся на DKK1, молекулы, нацеливающейся на MUC1, молекулы, нацеливающейся на MUC16, молекулы, нацеливающейся на PSMA, молекулы, нацеливающейся на MSLN, молекулы, нацеливающейся на NY-ES0-1, молекулы, нацеливающейся на B7H3, молекулы, нацеливающейся на B7H4, молекулы, нацеливающейся на BCMA, молекулы, нацеливающейся на CD29, молекулы, нацеливающейся на CD151, молекулы, нацеливающейся на CD123, молекулы, нацеливающейся на CD33, молекулы, нацеливающейся на CD37, молекулы, нацеливающейся на CDH19, молекулы, нацеливающейся на SEA, молекулы, нацеливающейся на клаудин 18.2, молекулы, нацеливающейся на CLEC12A, молекулы, нацеливающейся на EGFRVIII, молекулы, нацеливающейся на EPCAM, молекулы, нацеливающейся на EPHA2, молекулы, нацеливающейся на FCRH5, молекулы, нацеливающейся на FLT3, молекулы, нацеливающейся на GD2, молекулы, нацеливающейся на глипикан 3, молекулы, нацеливающейся на gpA33, молекулы, нацеливающейся на GPRC5D, молекулы, нацеливающейся на IL-23R, молекулы, нацеливающейся на IL-1RAP, молекулы, нацеливающейся на MCSP, молекулы, нацеливающейся на RON, молекулы, нацеливающейся на ROR1, молекулы, нацеливающейся на STEAP2, молекулы, нацеливающейся на TfR, молекулы, нацеливающейся на CD166, молекулы, нацеливающейся на TPBG, молекулы, нацеливающейся на TROP2, ингибитора протеасомы, ингибитора ABL, ингибитора CD30, ингибитора FLT3, ингибитора MET, ингибитора RET, ингибитора IL-1 β , ингибитора MEK, ингибитора ROS1, ингибитора BRAF, ингибитора CD38, ингибитора RANKL, ингибитора B4GALNT1, ингибитора SLAMF7, ингибитора IDH2, ингибитора mTOR, молекулы, нацеливающейся на CD20, ингибитора BTK, ингибитора PI3K, ингибитора FLT3, ингибитора PARP, ингибитора

CDK4, ингибитора CDK6, ингибитора FGFR, ингибитора RAF, ингибитора JAK1, ингибитора JAK2, ингибитора JAK3, ингибитора IL-6, ингибитора IL-17, ингибитора Smoothed, ингибитора IL-6R, ингибитора BCL2, ингибитора PTCH, ингибитора PIGF, ингибитора TGFB, агониста CD28, агониста CD3, агониста CD40, агониста GITR, агониста OX40, агониста VISTA, агониста CD137, ингибитора LAG3, ингибитора TIM3, ингибитора TIGIT и ингибитора IL-2R.

[536] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ лечения или предупреждения рака с помощью введения любого маскированного цитокина, описанного в настоящем документе, в комбинации с противовоспалительным средством. Противовоспалительное средство может представлять собой любое средство, способное предупреждать, нейтрализовать, ингибировать или иным образом ослаблять воспаление.

[537] В некоторых вариантах осуществления противовоспалительное средство представляет собой ингибитор циклооксигеназы (COX). Ингибитор COX может представлять собой любое средство, которое ингибирует активность COX-1 и/или COX-2. В некоторых вариантах осуществления ингибитор COX избирательно ингибирует COX-1 (т.е., ингибитор COX ингибирует активность COX-1 больше, чем он ингибирует активность COX-2). В некоторых вариантах осуществления ингибитор COX избирательно ингибирует COX-2 (т.е., ингибитор COX ингибирует активность COX-2 больше, чем он ингибирует активность COX-1). В некоторых вариантах осуществления ингибитор COX ингибирует как COX-1, так и COX-2.

[538] В некоторых вариантах осуществления ингибитор COX представляет собой селективный ингибитор COX-1 и его выбирают из группы, состоящей из SC-560, FR122047, P6, мофезолака, TFAP, флурбипрофена и кетопрофена. В некоторых вариантах осуществления ингибитор COX представляет собой селективный ингибитор COX-2 и его выбирают из группы, состоящей из целекоксиба, рофекоксиба, мелоксикама, пироксикама, деракоксиба, парекоксиба, вальдекоксиба, эторикоксиба, производного хромена, производного хромана, N-(2-циклогексилоксинитрофенил)метансульфонамида, парекоксиба, люмиракоксиба, RS 57067, T-614, BMS-347070, JTE-522, S-2474, SVT-2016, CT-3, АВТ-963, SC-58125, нимесулида, флосулида, NS-398, L-745337, RWJ-63556, L-784512, дарбуфелона, CS-502, LAS-34475, LAS-34555, S-33516, диклофенака, мефенаминовой кислоты и SD-8381. В некоторых вариантах осуществления ингибитор COX выбирают из группы, состоящей из ибупрофена, напроксена, кеторолака, индометацина, аспирина, напроксена, толметина, пироксикама и меклофенамата. В некоторых вариантах осуществления ингибитор COX выбирают из группы, состоящей из SC-560, FR122047, P6, мофезолака, TFAP, флурбипрофена, кетопрофена, целекоксиба, рофекоксиба, мелоксикама, пироксикама, деракоксиба, парекоксиба, вальдекоксиба, эторикоксиба, производного хромена, производного хромана, N-(2-циклогексилоксинитрофенил)метансульфонамида, парекоксиба, люмиракоксиба, RS 57067, T-614, BMS-347070, JTE-522, S-2474, SVT-2016, CT-3, АВТ-963, SC-58125,

нимесулида, флосулида, NS-398, L-745337, RWJ-63556, L-784512, дарбуфелона, CS-502, LAS-34475, LAS-34555, S-33516, диклофенака, мефенамовой кислоты, SD-8381, ибупрофена, напроксена, кеторолака, индометацина, аспирина, напроксена, толметина, пироксикама и меклофенамата.

[539] В некоторых вариантах осуществления противовоспалительное средство представляет собой ингибитор NF-κB. Ингибитор NF-κB может представлять собой любое средство, которое ингибирует путь NF-κB. В некоторых вариантах осуществления ингибитор NF-κB выбирают из группы, состоящей из ингибитора комплекса ИКК, ингибитора расщепления IκB, ингибитора ядерной транслокации NF-κB, ингибитора ацетилирования p65, ингибитора связывания ДНК NF-κB, ингибитора трансактивации NF-κB и ингибитора индукции p53.

[540] В некоторых вариантах осуществления ингибитор комплекса ИКК выбирают из группы, состоящей из TPCA-1, ингибитора активации NF-κB VI (BOT-64), BMS-345541, амлексанокса, SC-514 (GK-01140), IMD-0354, и ИКК-16. В некоторых вариантах осуществления ингибитор расщепления IκB выбирают из группы, состоящей из BAY-11-7082, MG-115, MG-132, лактацистина, эпоксомидина, партенолида, карфилзомиба и MLN-4924 (певонедистата). В некоторых вариантах осуществления ингибитор ядерной транслокации NF-κB выбирают из группы, состоящей из JSH-23 и ролипрама. В некоторых вариантах осуществления ингибитор ацетилирования p65 выбирают из группы, состоящей из галловой кислоты и анакардовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления ингибитор связывания ДНК NF-κB выбирают из группы, состоящей из GYY-4137, p-XSC, CV-3988 и простагландина E2 (PGE2). В некоторых вариантах осуществления ингибитор трансактивации NF-κB выбирают из группы, состоящей из LY-294002, вортманнина и мезаламина. В некоторых вариантах осуществления ингибитор индукции p53 выбирают из группы, состоящей из хинакринина и флавопиридола. В некоторых вариантах осуществления ингибитор NF-κB выбирают из группы, состоящей из TPCA-1, ингибитора активации NF-κB VI (BOT-64), BMS-345541, амлексанокса, SC-514 (GK-01140), IMD-0354, ИКК-16, BAY-11-7082, MG-115, MG-132, лактацистина, эпоксомидина, партенолида, карфилзомиба, MLN-4924 (певонедистата), JSH-23, ролипрама, галловой кислоты, анакардовой кислоты, GYY-4137, p-XSC, CV-3988, простагландина E2 (PGE2), LY-294002, вортманнина, мезаламина, хинакринина и флавопиридола.

[541] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ лечения или предупреждения рака с помощью введения любого маскированного цитокина или композиции, описанной в настоящем документе, в комбинации с противораковым терапевтическим белком. Противораковый терапевтический белок может представлять собой любой терапевтический белок, способный ослаблять опухолевый рост, препятствовать репликации раковых клеток, прямо или косвенно уничтожать раковые клетки, ослаблять метастазирование, ослаблять кровоснабжение опухоли или снижать выживаемость клеток. Иллюстративные противораковые терапевтические белки

могут находиться в форме антитела или его фрагмента, производного антитела, биспецифического антитела, Т-клетки с химерными антигенными рецепторами (CAR), слитого белка или биспецифического активатора Т-клеток (BiTE).

[542] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ лечения или предупреждения воспалительного или аутоиммунного заболевания с помощью введения любого маскированного цитокина или композиции, описанной в настоящем документе. Термин «воспалительное заболевание» относится к заболеванию, вызванному воспалением, возникающему в результате его или приводящему к нему. Термин «аутоиммунное заболевание» относится к заболеванию, при котором собственная иммунная система субъекта атакует его собственные клетки или ткани.

[543] В некоторых вариантах осуществления воспалительное или аутоиммунное заболевание выбирают из группы, состоящей из атеросклероза, ожирения, воспалительного заболевания кишечника (IBD), ревматоидного артрита, аллергического энцефалита, псориаза, атопического кожного заболевания, остеопороза, перитонита, гепатита, волчанки, целиакии, синдром Шегрена, ревматической полимиалгии, рассеянного склероза (MS), анкилозирующего спондилита, сахарного диабета 1 типа, гнездовой алопеции, васкулита и височного артериита, реакции «трансплантат против хозяина» (GVHD), астмы, COPD, паранеопластического аутоиммунного заболевания, воспаления хряща, ювенильного артрита, ювенильного ревматоидного артрита, олигоарткулярного ювенильного ревматоидного артрита, полиарткулярного ювенильного ревматоидного артрита, ювенильного ревматоидного артрита с системным началом, ювенильного анкилозирующего спондилита, ювенильного энтеропатического артрита, ювенильный реактивного артрита, ювенильного синдрома Рейтера, синдрома SEA (серонегативная реакция, энтезопатия, суставной синдром), ювенильного дерматомиозита, ювенильного псориазического артрита, ювенильной склеродермии, ювенильной системной красной волчанки, ювенильного васкулита, олигоарткулярного ревматоидного артрита, ревматоидного артрита с системным началом, энтеропатического артрита, реактивного артрита, синдрома Рейтера, дерматомиозита, псориазического артрита, склеродермии, васкулита, миолита, полимиолита, дерматомиолита, узелкового полиартериита, гранулематоза Вегенера, артериита, ревматической полимиалгии, саркоидоза, склероза, первичного билиарного склероза, склерозирующего холангита, псориаза, бляшечного псориаза, каплевидного псориаза, инверсного псориаза, пустулезного псориаза, эритродермического псориаза, дерматита, атопического дерматита, атеросклероза, болезни Стилла, системной красной волчанки (SLE), миастении гравис, болезни Крона, язвенного колита, целиакии, риносинусита, риносинусита с полипами, эозинофильного эзофогита, эозинофильного бронхита, болезни Гийена-Барре, тиреоидита (например болезни Грейвса), болезни Аддисона, феномена Рейно, аутоиммунного гепатита, отторжения трансплантата, повреждения почек, васкулита, индуцированного гепатитом С, и спонтанной потери беременности.

Готовые изделия или наборы

[544] В другом аспекте предложено готовое изделие или набор, который содержит любой маскированный цитокин, описанный в настоящем документе. Готовое изделие или набор могут дополнительно содержать инструкции по применению цитокинов в способах по настоящему изобретению. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления готовое изделие или набор содержат инструкции по применению маскированного цитокина в способах лечения или предупреждения нарушения (например рака) у индивидуума, включающих введение индивидууму эффективного количества маскированного цитокина. Например, в некоторых вариантах осуществления готовое изделие или набор содержат инструкции по применению маскированного полипептида IL-2 в способах лечения или предупреждения нарушения (например рака) у индивидуума, включающих введение индивидууму эффективного количества маскированного полипептида IL-2. В некоторых вариантах осуществления индивидуум представляет собой человека. В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет заболевание, выбранное из группы, состоящей из лейкоза, лимфомы, рака головы и шеи, колоректального рака, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы, меланомы, рака молочной железы, нейробластомы, рака легких, рака яичников, остеосаркомы, рака мочевого пузыря, рака шейки матки, рака печени, рака почек, рака кожи или рака яичек.

[545] Готовое изделие или набор могут дополнительно содержать контейнер. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы (например двухкамерные флаконы), шприцы (такие как одно- или двухкамерные шприцы), пробирки и пакеты для внутривенного (в/в) введения. Контейнер может быть изготовлен из различных материалов, таких как стекло или пластмасса. Контейнер содержит состав. В некоторых вариантах осуществления состав представляет собой лиофилизированный состав. В некоторых вариантах осуществления состав представляет собой замороженный состав. В некоторых вариантах осуществления состав представляет собой жидкий состав.

[546] Изделие или набор могут дополнительно содержать этикетку или листок-вкладыш, который находится на контейнере или связан с ним, может указывать инструкции для разведения и/или применения состава. Этикетка или листок-вкладыш могут дополнительно указывать, что состав является пригодным или предназначен для подкожного, внутривенного или других способов введения для лечения или предупреждения нарушения (например рака) у индивидуума. Контейнер, содержащий композицию, может представлять собой флакон для одноразового использования или флакон для многократного использования, что позволяет многократно вводить разведенный состав. Готовое изделие или набор могут дополнительно содержать второй контейнер, содержащий подходящий разбавитель. Готовое изделие или набор могут дополнительно содержать другие материалы, необходимые с коммерческой, терапевтической и потребительской точек зрения, включая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы, шприцы и вкладыши в упаковки с инструкциями по применению.

[547] В конкретном варианте осуществления в настоящем изобретении

предложены наборы для однократного введения дозы. Такие наборы содержат контейнер с водным составом терапевтического цитокина, включая как одно-, так и многокамерные предварительно заполненные шприцы. Иллюстративные предварительно заполненные шприцы доступны от компании Vetter GmbH, Равенсбург, Германия.

[548] Готовое изделие или набор по настоящему изобретению необязательно дополнительно содержит контейнер, содержащий второе лекарственное средство, при этом маскированный цитокин представляет собой первое лекарственное средство, и это готовое изделие или набор дополнительно содержит инструкции на этикетке или вкладыше в упаковке для лечения субъекта вторым лекарственным средством в эффективном количестве.

[549] В другом варианте осуществления в настоящем документе предложено готовое изделие или набор, содержащий составы, описанные в настоящем документе, для введения в автоинжекторном устройстве. Автоинжектор можно описать как инъекционное устройство, которое после активации доставит свое содержимое без дополнительных необходимых действий со стороны пациента или администратора. Они особенно подходят для самолечения терапевтическими составами, когда скорость доставки должна быть постоянной, а время доставки превышает несколько секунд.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[550] Если не указано иное, все термины в данной области техники, обозначения и другие технические и научные термины или терминология, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в данной области техники, к которой относится заявленный предмет изобретения. В некоторых случаях термины с общепринятыми значениями определены в настоящем документе для ясности и/или для удобства, и включение таких определений в настоящий документ не обязательно должно толковаться как представляющее существенное отличие от того, что обычно понимается в данной области техники.

[551] Следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными композициями или биологическими системами, которые, конечно, могут варьироваться. Также следует понимать, что терминология, используемая в настоящем документе, предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения. В контексте настоящего описания и прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа включают в себя ссылки на формы множественного числа, если в содержании явно не указано иное. Таким образом, например, ссылка на «полипептид П-2» необязательно включает комбинацию двух или более таких полипептидов и т.п.

[552] Термин «приблизительно» в контексте настоящего документа относится к обычному диапазону ошибок для соответствующего значения, хорошо известному специалисту в данной области техники. Ссылка на «приблизительно» значение или параметр в настоящем документе включает (и описывает) варианты осуществления, которые направлены на это значение или параметр как таковые.

[553] Следует понимать, что аспекты и варианты осуществления настоящего изобретения, описанные в настоящем документе, включают в себя «содержащие» аспекты и варианты осуществления, «состоящие» из них и «состоящие по сути из» них.

[554] В контексте настоящего документа термин «и/или» относится к любому из элементов, любой комбинации элементов или ко всем элементам, с которыми ассоциирован этот термин. Например, фраза «А, В и/или С» предназначена для охвата каждого из следующих вариантов осуществления: А, В и С; А, В или С; А или В; А или С; В или С; А и В; А и С; В и С; А и В или С; В и А или С; С и А или В; А (только); В (только); и С (только).

[555] Термин «антитело» включает поликлональные антитела, моноклональные антитела (включая полноразмерные антитела, которые имеют Fc-область иммуноглобулина), композиции антител с полиэпитопной специфичностью, мультиспецифические антитела (например биспецифические антитела, диатела и одноцепочечные молекулы, а также фрагменты антител (например Fab, F(ab')₂ и Fv). Термин «иммуноглобулин» (Ig) используется в настоящем документе взаимозаменяемо с «антителом».

[556] Термин «диатела» относится к небольшим фрагментам антител с двумя антигенсвязывающими сайтами, которые содержат переменный домен тяжелой цепи (VH), связанный с доменом легкой цепи (VL) в той же полипептидной цепи (VH-VL).

[557] Основная 4-цепочечная единица антитела представляет собой гетеротетрамерный гликопротеин, состоящий из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Антитело IgM состоит из 5 основных гетеротетрамерных единиц вместе с дополнительным полипептидом, называемым J-цепью, и содержит 10 антигенсвязывающих сайтов, в то время как антитела IgA включают от 2 до 5 основных 4-цепочечных единиц, которые могут полимеризоваться с образованием поливалентных комплексов в сочетании с J-цепью. В случае IgG размер четырехцепочечного звена обычно составляет приблизительно 150000 дальтон. Каждая L-цепь связана с H-цепью одной ковалентной дисульфидной связью, в то время как две H-цепи связаны друг с другом одной или несколькими дисульфидными связями в зависимости от изоформа H-цепи. Каждая H- и L-цепь также имеет расположенные с равными интервалами внутрицепочечные дисульфидные мостики. Каждая H-цепь имеет на N-конце переменный домен (VH), за которым следуют три константных домена (CH) для каждой из цепей α и γ и четыре CH-домена для изоформ μ и ϵ . Каждая L-цепь имеет на N-конце переменный домен (VL), за которым следует константный домен на другом конце. VL выровнен с VH, а CL выровнен с первым константным доменом тяжелой цепи (CH1). Считается, что определенные аминокислотные остатки образуют границу раздела между переменными доменами легкой цепи и тяжелой цепи. Спаривание VH и VL вместе образует единый антигенсвязывающий сайт. Для получения информации о структуре и свойствах различных классов антител см., например, Basic and Clinical Immunology, 8th

Edition, Daniel P. Sties, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, page 71 and Chapter 6.

[558] L-цепь любого вида позвоночных может быть отнесена к одному из двух четко различающихся типов, называемых каппа и лямбда, на основании аминокислотных последовательностей их константных доменов. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелых цепей (СН) иммуноглобулины можно отнести к разным классам или изотипам. Существует пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, имеющие тяжелые цепи, обозначенные соответственно α , δ , ϵ , γ и μ . Классы γ и α дополнительно делятся на подклассы на основе относительно незначительных различий в последовательности и функции СН, например, люди экспрессируют следующие подклассы: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Антитела IgG1 могут существовать во множестве полиморфных вариантов, называемых аллотипами (см. обзор в работе Jefferis and Lefranc 2009. mAbs Vol 1 Issue 4 1-7), любой из которых является подходящим для применения в настоящем изобретении. Общие аллотипические варианты в человеческих популяциях обозначаются буквами a, f, n, z.

[559] «Выделенное » антитело представляет собой антитело, которое было идентифицировано, отделено и/или выделено из компонента его среды получения (например, естественным или рекомбинантным путем). В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид не находится в ассоциации со всеми другими компонентами его среды получения. Контаминирующие компоненты его среды получения, например, полученные из рекомбинантных трансфицированных клеток, представляют собой материалы, которые обычно затрудняют исследование, диагностику или терапевтическое применение антитела, и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. В некоторых вариантах осуществления полипептид очищают: (1) до более чем 95% по массе антитела, как определено, например, с помощью метода Лоури, и в некоторых вариантах до более чем 99% по массе; (1) до степени, достаточной для получения не менее 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности с использованием секвенатора с вращающимся стаканом, или (3) до гомогенности с помощью SDS-PAGE в невосстанавливающих или восстанавливающих условиях с использованием кумасси синего или серебрянки. Выделенное антитело включает антитело *in situ* в рекомбинантных клетках, поскольку по меньшей мере один компонент естественной среды антитела не будет присутствовать. Однако обычно выделенный полипептид или антитело получают по меньшей мере с помощью одной стадии очистки.

[560] Термин «моноклональное антитело» в контексте настоящего документа относится к антителу, полученному из популяции по сути гомогенных антител, т.е., отдельные антитела, составляющие популяцию, идентичны, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например изомеризации, амидирования), которые могут присутствовать в незначительных количествах. В некоторых вариантах осуществления моноклональные антитела имеют

расщепление на С-конце тяжелой цепи и/или легкой цепи. Например, 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных остатков отщепляются на С-конце тяжелой цепи и/или легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления С-концевое расщепление удаляет С-концевой лизин из тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления моноклональные антитела имеют расщепление на N-конце тяжелой цепи и/или легкой цепи. Например, 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных остатков отщепляются на N-конце тяжелой цепи и/или легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления усеченные формы моноклональных антител могут быть получены с помощью рекомбинантных методик. В некоторых вариантах осуществления моноклональные антитела являются высокоспецифичными, направленными против одного антигенного сайта. В некоторых вариантах осуществления моноклональные антитела являются высокоспецифичными, направленными против множества антигенных сайтов (такие как биспецифическое антитело или мультиспецифическое антитело). Модификатор «моноклональное» указывает на характер антитела как полученного из по сути гомогенной популяции антител, и его не следует истолковывать как требующий получения антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела, которые будут использоваться в соответствии с настоящим изобретением, могут быть получены с помощью различных методик, включая, например, метод гибридомы, способы рекомбинантной ДНК, технологии фагового дисплея и технологии для получения человеческих или человекообразным антител у животных, которые имеют части или все локусы иммуноглобулина человека или гены, кодирующие последовательности иммуноглобулина человека.

[561] Термины «полноразмерное антитело», «интактное антитело» или «целое антитело» используются взаимозаменяемо для обозначения антитела в его по сути интактной форме, в отличие от фрагмента антитела. В частности, целые антитела включают антитела с тяжелой и легкой цепями, включая Fc-область. Константные домены могут представлять собой константные домены нативной последовательности (например константные домены нативной последовательности человека) или их вариантами аминокислотной последовательности. В некоторых случаях интактное антитело может выполнять одну или несколько эффекторных функций.

[562] «Фрагмент антитела» содержит часть интактного антитела, такую как антигенсвязывающая область и/или переменная область интактного антитела, и/или константная область интактного антитела. Примеры фрагмента антитела включают Fc-область антитела, часть Fc-области или часть антитела, содержащую Fc-область. Примеры антигенсвязывающих фрагментов антител включают доменные антитела (dAb), фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv; диатела; линейные антитела (см. патент США № 5641870, Пример 2; Zapata et al., Protein Eng. 8(10): 1057-1062 [1995]); одноцепочечные молекулы антител и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител. Можно конструировать антитела с одной тяжелой цепью или антитела с одной легкой цепью или, в случае тяжелой цепи, можно выделить из верблюжьих, акул, библиотек или мышей, сконструированных для получения молекул с одной тяжелой

цепью.

[563] Расщепление антител папаином приводило к образованию двух идентичных антигенсвязывающих фрагментов, называемых «Fab»-фрагментами, и остаточного «Fc»-фрагмента, имеющего обозначение, отражающее способность легко кристаллизоваться. Fab-фрагмент состоит из полной L-цепи вместе с доменом варибельной области H-цепи (VH) и первым константным доменом одной тяжелой цепи (CH1). Каждый Fab-фрагмент является моновалентным по отношению к связыванию антигена, т.е., имеет единственный антигенсвязывающий сайт. Обработка антитела пепсином приводит к образованию одного большого фрагмента F(ab')₂, который примерно соответствует двум дисульфидно связанным Fab-фрагментам, имеющим разную антигенсвязывающую активность и все еще способным к перекрестному связыванию антигена. Fab'-фрагменты отличаются от Fab-фрагментов наличием нескольких дополнительных остатков на карбоксиконце CH1-домена, включая один или несколько цистеинов из шарнирной области антитела. Fab'-SH представляет собой обозначение в настоящем документе для Fab', в котором остаток (остатки) цистеина константных доменов несут свободную тиольную группу. Фрагменты антитела F(ab')₂ первоначально были получены как пары фрагментов Fab', между которыми имеются шарнирные цистеины. Также известны другие химические соединения фрагментов антител. Fc-фрагмент содержит карбоксиконцевые части обеих H-цепей, удерживаемые вместе дисульфидами. Эффекторные функции антител определяются последовательностями и гликаном в Fc-области, области, которая также распознается Fc-рецепторами (FcR), обнаруженными на определенных типах клеток.

[564] Термин «Fc-область» в настоящем документе используется для определения C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, включая Fc-области с нативной последовательностью и варианты Fc-областей. Хотя границы Fc-области тяжелой цепи иммуноглобулина могут варьироваться, Fc-область тяжелой цепи человеческого IgG обычно определяется как расположенная от аминокислотного остатка в положении Cys226 или от Pro230 до его карбоксильного конца. Подходящие Fc-области с нативной последовательностью для применения в антителах по настоящему изобретению включают человеческие IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

[565] Термин «цитокин» относится к секретлируемому полипептиду или его активному фрагменту или мутанту, который модулирует активность клеток, особенно клеток иммунной системы. Примеры цитокинов включают, например, хемокины, интерфероны, интерлейкины, лимфокины и факторы некроза опухоли. Термин охватывает любой цитокиновый белок или его функциональный фрагмент или вариант. Термин охватывает любой природный цитокин из любого источника позвоночных, включая млекопитающих, таких как приматы (например человек) и грызуны (например крысы и мыши), если не указано иное. Термин охватывает непротессированную форму цитокина, а также любую форму цитокина, которая является результатом процессинга в клетке. Термин также включает встречающиеся в природе варианты цитокина. Термин также охватывает не встречающиеся в природе варианты цитокина, такие как усечения, делеции,

формы, в которых цитокин связан с другой молекулой, и варианты, вызванные по меньшей мере одним изменением аминокислоты в аминокислотной последовательности (например заменой, добавлением или удалением). В некоторых аспектах варианты или гомологи имеют по меньшей мере 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности по всей последовательности или части последовательности (например, 50, 100, 125 или 150 или более непрерывных аминокислотных остатков) по сравнению с встречающимся в природе полипептидом цитокина.

[566] Термин «IL-2» или «полипептид IL-2», в контексте настоящего документа, относится к любому белку интерлейкина-2 (IL-2) или его функциональному фрагменту или варианту. Термин охватывает любой природный IL-2 из любого источника позвоночных, включая млекопитающих, таких как приматы (например человек) и грызуны (например крысы и мыши), если не указано иное. Термин охватывает необработанный IL-2 (например, полноразмерную форму предшественника IL-2, состоящую из аминокислотных остатков 1-153), а также любую форму IL-2, которая является результатом процессинга в клетке (например, зрелая форма IL-2, состоящая из аминокислотных остатков 21-153). Таким образом, термин охватывает белок, кодируемый аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 160, а также варианты его последовательности. Термин также включает встречающиеся в природе варианты IL-2. Термин также охватывает не встречающиеся в природе варианты IL-2, такие как усечения, делеции, формы, в которых IL-2 связан с другой молекулой, и варианты, вызванные по меньшей мере одним изменением аминокислоты в аминокислотной последовательности (например заменой, добавлением или удалением). В некоторых аспектах варианты или гомологи имеют по меньшей мере 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности по всей последовательности или части последовательности (например, 50, 100 или 133 непрерывным аминокислотным остаткам) по сравнению с встречающимся в природе полипептидом IL-2, таким как полипептид IL-2, кодируемый аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 159 или 160. Таким образом, термин «IL-2» или «полипептид IL-2» включает белок IL-2, содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-8, 159, 160, 230, 243-251, 260, 775-792 и 813-822, включая их варианты, такие как варианты, образуемый с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-8, 159, 160, 230, 243-251, 260, 775-792 и 813-822.

[567] Термин «IL-15» или «полипептид IL-15», в контексте настоящего документа, относится к любому белку интерлейкина-15 (IL-15) или его функциональному фрагменту или варианту. Термин охватывает любой природный IL-15 из любого источника позвоночных, включая млекопитающих, таких как приматы (например человек) и грызуны (например крысы и мыши), если не указано иное. Термин охватывает необработанный IL-15 (например, полноразмерную форму предшественника IL-15, состоящую из аминокислотных остатков 1-162), а также любую форму IL-15, которая

является результатом процессинга в клетке (например, зрелая форма IL-15, состоящая из аминокислотных остатков 49-162). Таким образом, термин охватывает белок, кодируемый аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 167, а также варианты его последовательности. Термин также включает встречающиеся в природе варианты IL-15. Термин также охватывает не встречающиеся в природе варианты IL-15, такие как усечения, делеции, формы, в которых IL-15 связан с другой молекулой, и варианты, вызванные по меньшей мере одним изменением аминокислоты в аминокислотной последовательности (например заменой, добавлением или удалением). В некоторых аспектах варианты или гомологи имеют по меньшей мере 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности по всей последовательности или части последовательности (например, 50, 100 или 114 непрерывным аминокислотным остаткам) по сравнению с встречающимся в природе полипептидом IL-15, таким как полипептид IL-15, кодируемый аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 166 или 167. Таким образом, термин «IL-15» или «полипептид IL-15» включает белок IL-15, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166 или 167, включая их варианты, такие как варианты, образуемые с помощью одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 166 или 167.

[568] «Функциональные фрагменты» цитокина содержат часть полноразмерного цитокинового белка, который сохраняет или имеет модифицированную способность связывания цитокинового рецептора (например, в пределах по меньшей мере 50%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% активности по сравнению с полноразмерным цитокиновым белком). Полноразмерный цитокиновый белок может представлять собой полноразмерный цитокиновый белок цитокинового белка дикого типа, или он может представлять собой полноразмерный цитокиновый белок модифицированного варианта цитокинового белка, такого как полноразмерный цитокин, который был модифицирован с помощью одной или нескольких аминокислотных замен. Способность к связыванию цитокинового рецептора может быть продемонстрирована, например, с помощью способности цитокина связываться с когнатным цитокиновым рецептором или его компонентом (например, одной или несколькими цепями гетеротримерного рецепторного комплекса). В контексте настоящего документа термин «полноразмерный» может относиться к полной длине цитокина в его непроцессированной форме (т.е., предшественника) или процессированной (т.е., зрелой) форме. Термин также охватывает часть полноразмерного белка, которая сохраняет или имеет модифицированную способность связывания цитокинового рецептора (например, в пределах по меньшей мере 50%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% активности по сравнению с полноразмерным цитокиновым белком) и был дополнительно модифицирован с включением одной или нескольких модификаций аминокислотной последовательности, таких как одна или несколько аминокислотных делеций, добавлений или замен. Таким образом, функциональный фрагмент цитокина не только охватывает часть полноразмерного цитокинового белка, но также охватывает вариант части

полноразмерного цитокинового белка. Например, функциональный фрагмент полипептида IL-2 содержит часть полноразмерного белка IL-2, который сохраняет или имеет модифицированную способность связывания IL-2R (например, в пределах по меньшей мере 50%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% активности по сравнению с полноразмерным IL-2 дикого типа). Способность связывания IL-2R может быть продемонстрирована, например, с помощью способности связываться с цепью IL-2R α , цепью IL-2R β и/или цепью IL-2R γ IL-2R, либо отдельно, либо в комбинации с друг с другом. Функциональный фрагмент IL-2 содержит, например, белок IL-2, который содержит аминокислотные остатки 21-153 полной последовательности IL-2 SEQ ID NO: 159, а также его варианты, такие как варианты, которые содержат одну или несколько замен в аминокислотной последовательности. Таким образом, функциональный фрагмент IL-2 содержит, например, белок IL-2, содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-8, 160, 230, 243-251, 260, 775-792 и 813-822. Функциональный фрагмент IL-15 содержит, например, белок IL-15, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167.

[569] Термин «активируемый», в контексте настоящего документа, для описания любого цитокина или его функционального фрагмента, означает, что цитокин или его функциональный фрагмент были модифицированы с включением маскирующего фрагмента и, в некоторых вариантах осуществления, других компонентов, которые позволяют активировать цитокин или функциональный фрагмент в предпочтительной среде. Например, цитокин или его функциональный фрагмент, который был модифицирован с включением маскирующего фрагмента для активации в предпочтительной среде, может упоминаться в настоящем как «активируемый цитокин», или «маскированный цитокин», или «активируемый маскированный цитокин». Таким образом, термин «маскированный цитокин» включает любой цитокин или его функциональный фрагмент, который был модифицирован с включением маскирующего фрагмента, и, в некоторых вариантах осуществления, других компонентов, таких как расщепляемый пептид, которые позволяют активировать цитокин или функциональный фрагмент в предпочтительной среде.

[570] Термин «маскирующий фрагмент» в контексте настоящего документа относится к пептиду, способному связываться или иным образом проявлять аффинность в отношении цитокина или его функционального фрагмента таким образом, что маскирующий фрагмент блокирует, затрудняет, ингибирует (например снижает) или иным образом предупреждает (например маскирует) активность или связывание цитокина или его функционального фрагмента с его когнатным рецептором или белком. В некоторых вариантах осуществления маскирующий фрагмент представляет собой цитокиновый рецептор или его субъединицу или функциональный фрагмент.

[571] Термин «цитокиновый рецептор» в контексте настоящего документа относится к любому рецептору в данной области техники, который связывается с одним или несколькими цитокинами, включая, но не ограничиваясь ими, рецепторы IL-1, IL-2,

IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28A, IL-28B, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-34, IL-35, IL-36, IL-37, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), колониестимулирующий фактор макрофагов (M-CSF), фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), трансформирующий фактор роста бета (TGF- β), IFN- γ (гамма), CD252, CD154, CD178, CD70, CD153, 4-1BB-L, TRAIL, RANKL, APO3L, CD256, CD257, CD258, TL1, AITRL, EDA1, интерферон (IFN)- α (альфа), IFN- β (бета), IFN- γ (гамма), гормон роста (GH), эритропоэтин (EPO), пролактин (PRL), фактор ингибирования лейкоза (LIF), онкостатин (OSM) и тромбopoэтин (TPO). Некоторые цитокиновые рецепторы функционируют полностью или частично как гетеромерные комплексы из более чем одной субъединицы или как гомомерные комплексы. Термин также охватывает субъединицы цитокиновых рецепторов, которые способны связываться с одним или несколькими цитокинами либо отдельно, либо в комплексе с одной или несколькими другими субъединицами цитокинового рецептора (например, в виде гетеромерного или гомомерного комплекса). Таким образом, ссылка на «цитокиновый рецептор», который представляет собой гетеромерный комплекс из трех субъединиц, например, включает ссылку на гетеромерный комплекс, включающий все три субъединицы, а также ссылку на каждую субъединицу в отдельности или в различных комбинациях друг с другом. Неограничивающие примеры цитокиновых рецепторов включают CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6, CXCR7, CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, CCR11, XCR1, CX3CR1, IL-1RAP, IL-1RAPL1, IL-1RAPL2, IL-1RL1, IL-1RL2, IL-1R1, IL-1R2, IL-2R, IL-2R α , IL-2R β , IL-2R γ , IL-3R α , IL-4R, IL-5R α , IL-6R, IL-6ST, IL-7R, IL-9R, IL-10R α , IL-10R β , IL-11R α , IL-12R β 1, IL-12R β 2, IL-13R α 1, IL-13R α 2, IL-15R α , IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-17RD, IL-17RE, IL-18RAP, IL-18R1, IL-20R α , IL-20R β , IL-21R, IL-22R α 1, IL-22R α 2, IL-23R, IL-27R α , IL-28R α , IL-31RA, IFNAR1, IFNAR2, IFNGR1, IFNGR2, IFNLR1, GMR α (CD116), CD131, GHR, PRLR, EPOR, LIFR (CD118), OSMR β , TPO-R (CD110), CSF-1R, EDAR, TNFRSF1A, TNFRSF1B, LTBR, TNFRSF4, CD40, FAS, TNFRSF6B, CD27, TNFRSF8, TNFRSF9, TNFRSF10A, TNFRSF10B, TNFRSF10C, TNFRSF10D, TNFRSF11A, TNFRSF11B, TNFRSF12A, TNFRSF13B, TNFRSF13C, TNFRSF14, NGFR, TNFRSF17, TNFRSF18, TNFRSF19, RELT, TNFRSF21, TNFRSF25 и EDA2R.

[572] Термин «IL-2R», или «рецептор IL-2», или «рецептор цитокина IL-2» в контексте настоящего документа относится к высокоаффинному рецепторному комплексу IL-2, который содержит три отдельные и нековалентно связанные цепи: цепь IL-2R α (также обозначаемая как CD25), цепь IL-2R β (также обозначаемая как CD122) и цепь IL-2R γ (также обозначаемая как CD132). IL-2 способен связываться с цепью IL-2R α . IL-2 также способен связываться с цепью IL-2R α в комбинации с цепью IL-2R β . IL-2 также способен связываться с максимальной аффинностью с цепью IL-2R α в комбинации с цепями IL-2R β и IL-2R γ . В некоторых случаях термин также охватывает цепь IL-2R α , цепь IL-2R β или цепь IL-2R γ или их комбинации.

[573] Термин «IL-15R», или «рецептор IL-15», или «рецептор цитокина IL-15» в контексте настоящего документа относится к высокоаффинному рецепторному комплексу IL-15, который содержит три отдельные и нековалентно связанные цепи: цепь IL-15R α , цепь IL-2R β и цепь IL-2R γ . IL-15 способен связываться с цепью IL-15R α , с гетеродимером цепи IL-2R β и цепи IL-2R γ , и с цепью IL-15R α в комбинации с цепью IL-2R β и цепью IL-2R γ . В некоторых случаях термин также охватывает цепь IL-15R α , цепь IL-2R β или цепь IL-2R γ или их комбинации.

[574] Термин «домен продления периода полужизни» относится к домену, который связан с целевым компонентом (например цитокином или его функциональным фрагментом, или маскирующим фрагментом) с целью продления периода полужизни целевого компонента в сыворотке крови. Термин «домен продления периода полужизни» включает, например, антитела, фрагменты антител, биспецифические антитела, альбумин, связывающие белки (например альбуминсвязывающие белки и IgG-связывающие белки), полиаминокислотные последовательности и производные антител (например, scFv, scFc, двойные переменные домены и производные антител на основе подхода CrossMab).

[575] «Процент (%) идентичности аминокислотной последовательности» по отношению к последовательности референтного полипептида определяется как процент аминокислотных остатков в кандидатной последовательности, которые идентичны аминокислотным остаткам в последовательности референтного полипептида, после выравнивания последовательностей и введения гэпов, при необходимости, для достижения максимального процента идентичности последовательностей, и без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательностей. Выравнивание для определения процента идентичности аминокислотной последовательности может быть достигнуто различными способами, которые известны специалистам в данной области техники, например, с использованием общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как программное обеспечение BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определять подходящие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей. Например, % идентичности аминокислотной последовательности данной аминокислотной последовательности А в отношении, по сравнению или против данной аминокислотной последовательности В (которая в качестве альтернативы может быть сформулирована как данная аминокислотная последовательность А, которая имеет или содержит определенный % аминокислотной идентичности последовательности в отношении, по сравнению или против данной аминокислотной последовательности В), рассчитывается следующим образом:

100 умножить на долю X/Y,

при этом X представляет собой количество аминокислотных остатков, оцениваемых как идентичные совпадения по последовательности в этой программе при

выравнивании А и В, и при этом Y представляет собой общее количество аминокислотных остатков в В. Следует понимать, что если длина аминокислотной последовательности А не равна длине аминокислотной последовательности В, % идентичности аминокислотной последовательности А и В не будет равняться % идентичности аминокислотной последовательности В и А.

[576] «Эффекторные функции» антитела относятся к тем биологическим активностям, которые присущи Fc-области (Fc-области с нативной последовательностью или Fc-области с вариантами аминокислотной последовательности) антитела, и варьируются в зависимости от изотипа антитела. Примеры эффекторных функций антитела включают: связывание C1q и комплементзависимую цитотоксичность; связывание с Fc-рецептором; антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (ADCC); фагоцитоз; подавление рецепторов клеточной поверхности (например, рецепторов В-клеток); и активацию В-клеток.

[577] «Аффинность связывания» в контексте настоящего документа относится к силе нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (например цитокина) и ее партнером по связыванию (например цитокинового рецептора). В некоторых вариантах осуществления аффинность связывающего белка (например цитокина) обычно может быть представлена константой диссоциации (K_d). Аффинность можно измерить обычными способами, известными в данной области техники, включая описанные в настоящем документе.

[578] «Выделенная» молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая полипептиды цитокинов, описанные в настоящем документе, представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, которая идентифицирована и отделена по меньшей мере от одной контаминирующей молекулы нуклеиновой кислоты, с которой она обычно связана в среде, в которой она была получена. В некоторых вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота не связана со всеми компонентами, ассоциированными со средой получения. Выделенные молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие полипептиды и полипептиды цитокинов в настоящем документе, находятся в форме, отличной от той, в которой они встречаются в природе. Таким образом, выделенные молекулы нуклеиновой кислоты отличаются от нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептиды и полипептиды цитокинов в настоящем документе, существующие естественным образом в клетках.

[579] Термин «фармацевтический состав» относится к препарату, который находится в такой форме, чтобы позволить биологической активности активного ингредиента быть эффективной, и который не содержит дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для субъекта, которому состав будет вводиться. Такие составы являются стерильными.

[580] Термин «носители» в контексте настоящего документа включает фармацевтически приемлемые носители, наполнители или стабилизаторы, которые нетоксичны для клетки или млекопитающего, подвергающегося их воздействию, в используемых дозах и концентрациях. Часто физиологически приемлемый носитель

представляет собой водный рН-буферный раствор. Примеры физиологически приемлемых носителей включают буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту; низкомолекулярный полипептид (менее чем приблизительно 10 остатков); белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие средства, такие как EDTA; сахарные спирты, такие как маннит или сорбитол; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, полиэтиленгликоль (ПЭГ) и PLURONICS™.

[581] В контексте настоящего документа термин «лечение» относится к клиническому вмешательству, предназначенному для изменения естественного изменения индивидуума или клетки, подвергаемых лечению, в ходе клинической патологии. Желательные эффекты лечения включают снижение скорости прогрессирования заболевания, нормализацию или ослабление патологического состояния, а также ремиссию или улучшение прогноза. Индивидуума успешно «лечат», например, если ослаблены или устранены один или несколько симптомов, ассоциированных с нарушением (например неопластическим заболеванием). Например, индивидуума успешно «лечат», если лечение приводит к повышению качества жизни тех, кто страдает заболеванием, уменьшению дозы других лекарственных средств, необходимых для лечения заболевания, уменьшению частоты рецидивов заболевания, уменьшению тяжести заболевания, задержке развития или прогрессирования заболевания и/или увеличению выживаемости индивидуумов.

[582] В контексте настоящего документа термин «в сочетании с» или «в комбинации с» относится к применению одного лечебного воздействия в дополнение к другому лечебному воздействию. Таким образом, термин «в сочетании с» или «в комбинации с» относится к применению одного лечебного воздействия до, во время или после применения другого лечебного воздействия в отношении индивидуума.

[583] В контексте настоящего документа термин «предупреждение» включает обеспечение профилактики возникновения или рецидива заболевания у индивидуума. Индивидуум может быть предрасположен к нарушению, быть восприимчивым к нему или иметь риск его развития, однако ему еще не был поставлен диагноз нарушения. В некоторых вариантах осуществления маскированные цитокины, описанные в настоящем документе, используют для задержки развития нарушения.

[584] В контексте настоящего документа индивидуум, «подверженный риску» развития нарушения, может иметь или не иметь обнаружимое заболевание или симптомы заболевания, а также может иметь или не проявлять обнаружимое заболевание или симптомы заболевания до применения способов лечения, описанных в настоящем документе. «В группе риска» означает, что у индивидуума имеется один или несколько факторов риска, которые являются измеряемыми параметрами, которые коррелируют с

развитием заболевания, как известно в данной области техники. Индивидуум, имеющий один или несколько из этих факторов риска, имеет более высокую вероятность развития нарушения, чем индивидуум без одного или нескольких из этих факторов риска.

[585] «Эффективное количество» относится по меньшей мере к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения необходимого или указанного эффекта, включая терапевтический или профилактический результат. Эффективное количество можно вводить за одно или несколько введений. «Терапевтически эффективное количество» представляет собой по меньшей мере минимальную концентрацию, необходимую для достижения измеримого улучшения конкретного нарушения. Терапевтически эффективное количество в настоящем документе может варьироваться в зависимости от таких факторов, как патологическое состояние, возраст, пол и масса тела пациента, а также способность антитела вызывать необходимый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество также может быть таким, при котором любые токсические или вредные эффекты маскированного цитокина компенсируются терапевтически полезными эффектами. «Профилактически эффективное количество» относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения необходимого профилактического результата. Обычно, но не обязательно, поскольку профилактическая доза используется у субъектов до или на более ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество может быть меньше терапевтически эффективного количества.

[586] «Хроническое» введение относится к введению лекарственного (лекарственных) препарата (препаратов) в непрерывном, а не в остром режиме, для поддержания начального терапевтического эффекта (активности) в течение продолжительного периода времени. «Прерывистое» введение представляет собой лечение, которое не проводится последовательно без перерывов, а скорее носит циклический характер.

[587] В контексте настоящего описания «индивидуум» или «субъект» означает млекопитающее. «Млекопитающее» для целей лечения включает человека, домашних и сельскохозяйственных животных, а также животных из зоопарков, животных для применения в спорте или домашних питомцев, таких как собаки, лошади, кролики, крупный рогатый скот, свиньи, хомяки, песчанки, мыши, хорьки, крысы, кошки и т.д. В некоторых вариантах осуществления индивидуум или субъект представляет собой человека.

ИЛЛЮСТРАТИВНЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[588] Среди представленных вариантов осуществления имеются следующие:

1. Маскированный цитокин, содержащий:

а) маскирующий фрагмент; и

б) цитокин или его функциональный фрагмент,

при этом маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством первого линкера.

2. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 1, дополнительно содержащий домен продления периода полужизни, который связан либо с маскирующим фрагментом, либо с цитокином или его функциональным фрагментом.

3. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 2, при этом домен продления периода полужизни связан либо с маскирующим фрагментом, либо с цитокином или его функциональным фрагментом посредством второго линкера.

4. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 2 или вариантом осуществления 3, при этом:

i) маскированный цитокин содержит в направлении от N- к C-концу или от C- к N-концу: а) маскирующий фрагмент; б) первый линкер; с) цитокин или его функциональный фрагмент; и d) домен продления периода полужизни;

ii) маскированный цитокин содержит в направлении от N- к C-концу или от C- к N-концу: а) маскирующий фрагмент; б) первый линкер; с) цитокин или его функциональный фрагмент; d) второй линкер и e) домен продления периода полужизни;

iii) маскированный цитокин содержит в направлении от N- к C-концу или от C- к N-концу: а) цитокин или его функциональный фрагмент; б) первый линкер; с) маскирующий фрагмент; и d) домен продления периода полужизни; или

iv) маскированный цитокин содержит в направлении от N- к C-концу или от C- к N-концу: а) цитокин или его функциональный фрагмент; б) первый линкер; с) маскирующий фрагмент; d) второй линкер; и e) домен продления периода полужизни.

5. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-4, при этом цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент.

6. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 5, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-8, 160, 230, 243-251, 260, 775-792 и 813-822.

7. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 5, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотную последовательность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента, которая снижает аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении CD25 (IL-2R α).

8. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 7, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: R38A, F42A, F42K, F42E, K43A, Y45A, Y45N, Y45R, E62A, E62R, E62S и L72G.

9. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 5, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную

последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотную последовательность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента, которая повышает аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R β или IL-2R γ .

10. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 9, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: H16I, L18C, D20A, D20L, D20F, N29L, L80F, R81D, L85V, I86V и I92F.

11. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 7 или вариантом осуществления 8, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью дополнительного введения одной или нескольких аминокислотных замен, которые повышают аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R β или IL-2R γ .

12. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 11, при этом одну или несколько аминокислотных замен, которые повышают аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R β или IL-2R γ , выбирают из группы, состоящей из H16I, L18C, D20A, D20L, D20F, N29L, L80F, R81D, L85V, I86V и I92F.

13. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 5, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотную последовательность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента, которая стабилизирует полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент.

14. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 13, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью введения одной из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: C125S, C125A и C125G.

15. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 7-12, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью дополнительного введения одной или нескольких аминокислотных замен, которые стабилизируют полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент.

16. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 15, при этом одна или несколько замен, которые стабилизируют полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент, представляют собой C125S, C125A или C125G.

17. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 5-16, при этом маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 10, 161-165, 187-218, 221-229, 231, 261, 826 и 827.

18. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-4, при этом цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-15 или его функциональный фрагмент.

19. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 18, при этом полипептид IL-15 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167.

20. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 18 или вариантом осуществления 19, при этом маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229, 232-234, 261 и 823-827.

21. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 18 или вариантом осуществления 19, при этом маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825: R24A, R26A, K34A, S40A, L42A и P67A.

22. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 2-21, при этом домен продления периода полужизни представляет собой антитело или его фрагмент.

23. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 22, при этом антитело или его фрагмент содержит либо полипептид тяжелой цепи, либо полипептид легкой цепи.

24. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 23, при этом полипептид тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 168 и 169.

25. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 23, при этом полипептид тяжелой цепи содержит одну или нескольких аминокислотных замен, изменяющих эффекторную функцию.

26. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 25, при этом полипептид тяжелой цепи:

a) представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG1 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

i) N297A, N297G или N297Q;

ii) L234A и L235A;

iii) C220S, C226S, C229S и P238S;

iv) C226S, C229S, E233P, L234V и L235A;

v) L234F, L235E и P331S;

vi) S267E и L328F;

vii) D265A;

viii) L234A, L235A и P329G;

b) представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG2 и содержит аминокислотную

(аминокислотные) замену (замены):

- i) V234A и G237A;
- ii) H268Q, V309L, A330S и A331S; или
- iii) V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S; или
- с) представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG4 и содержит аминокислотную

(аминокислотные) замену (замены):

- i) L235A, G237A и E318A;
- ii) S228P, L234A и L235A;
- iii) H268Q, V309L, A330S и P331S; или
- iv) S228P и L235A, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat

EU.

27. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 25, при этом полипептид тяжелой цепи содержит одну или нескольких аминокислотных замен, усиливающих эффекторную функцию.

28. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 27, при этом полипептид тяжелой цепи представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG1 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- a) S298A, E333A и K334A;
- b) S239D и I332E;
- c) S239D, A330L и I332E;
- d) P247I и A339D или A339Q;
- e) D280H и K290S;
- f) D280H, K290S и либо S298D либо S298V;
- g) F243L, R292P и Y300L;
- h) F243L, R292P, Y300L и P396L;
- i) F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L;
- j) G236A, S239D и I332E;
- k) K326A и E333A;
- l) K326W и E333S;
- m) K290E, S298G и T299A;
- n) K290E, S298G, T299A и K326E;
- o) K290N, S298G и T299A;
- p) K290N, S298G, T299A и K326E;
- q) K334V;
- r) L235S, S239D и K334V;
- s) K334V и Q331M, S239D, F243V, E294L или S298T;
- t) E233L, Q311M и K334V;
- u) L234I, Q311M и K334V;
- v) K334V и S298T, A330M или A330F;
- w) K334V, Q311M и либо A330M либо A330F;

- x) K334V, S298T и либо A330M либо A330F;
- y) K334V, S239D и либо A330M либо S298T;
- z) L234Y, Y296W и K290Y, F243V или E294L;
- aa) Y296W и либо L234Y либо K290Y;
- ab) S239D, A330S и I332E,
- ac) V264I;
- ad) F243L и V264I;
- ae) L328M;
- af) I332E;
- ag) L328M и I332E;
- ah) V264I и I332E;
- ai) S239E и I332E;
- aj) S239Q и I332E;
- ak) S239E;
- al) A330Y;
- am) I332D;
- an) L328I и I332E;
- ao) L328Q и I332E;
- ap) V264T;
- aq) V240I;
- ar) V266I;
- as) S239D;
- at) S239D и I332D;
- au) S239D и I332N;
- av) S239D и I332Q;
- aw) S239E и I332D;
- ax) S239E и I332N;
- ay) S239E и I332Q;
- az) S239N и I332D;
- ba) S239N и I332E;
- bb) S239Q и I332D;
- bc) A330Y и I332E;
- bd) V264I, A330Y и I332E;
- be) A330L и I332E;
- bf) V264I, A330L и I332E;
- bg) L234E, L234Y или L234I;
- bh) L235D, L235S, L235Y или L235I;
- bi) S239T;
- bj) V240M;
- bk) V264Y;

- bl) A330I;
- bm) N325T;
- bn) I332E и L328D, L328V, L328T или L328I;
- bo) V264I, I332E и либо S239E либо S239Q;
- bp) S239E, V264I, A330Y и I332E;
- bq) A330Y, I332E и либо S239D либо S239N;
- br) A330L, I332E и либо S239D либо S239N;
- bs) V264I, S298A и I332E;
- bt) S298A, I332E и либо S239D либо S239N;
- bu) S239D, V264I и I332E;
- bv) S239D, V264I, S298A и I332E;
- bw) S239D, V264I, A330L и I332E;
- bx) S239D, I332E и A330I;
- by) P230A;
- bz) P230A, E233D и I332E;
- ca) E272Y;
- cb) K274T, K274E, K274R, K274L или K274Y;
- cd) F275W;
- ce) N276L;
- cf) Y278T;
- cg) V302I;
- ch) E318R;
- ci) S324D, S324I или S324V;
- cj) K326I или K326T;
- ck) T335D, T335R или T335Y;
- cl) V240I и V266I;
- cm) S239D, A330Y, I332E и L234I;
- cn) S239D, A330Y, I332E и L235D;
- co) S239D, A330Y, I332E и V240I;
- cp) S239D, A330Y, I332E и V264T; или
- cq) S239D, A330Y, I332E, и либо K326E, либо K326T, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

29. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 23, при этом полипептид легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157 или 170.

30. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 22, при этом антитело или его фрагмент представляет собой домен кристаллизующегося фрагмента (Fc-домен) или его фрагмент.

31. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 30, при этом Fc-домен или его фрагмент содержит одну или нескольких аминокислотных замен,

изменяющих эффекторную функцию.

32. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 31, при этом Fc-домен или его функциональный фрагмент:

а) представляет собой Fc-домен IgG1 и его функциональный фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) N297A, N297G или N297Q;
- ii) L234A и L235A;
- iii) C220S, C226S, C229S и P238S;
- iv) C226S, C229S, E233P, L234V и L235A;
- v) L234F, L235E и P331S;
- vi) S267E и L328F;
- vii) D265A;
- viii) L234A, L235A и P329G;

б) представляет собой Fc-домен IgG2 или его функциональный фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) V234A и G237A;
- ii) H268Q, V309L, A330S и A331S; или
- iii) V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S; или

в) представляет собой Fc-домен IgG4 или его функциональный фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) L235A, G237A и E318A;
- ii) S228P, L234A и L235A;
- iii) H268Q, V309L, A330S и P331S; или
- iv) S228P и L235A, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

33. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 31, при этом Fc-домен или его функциональный фрагмент содержит одну или нескольких аминокислотных замен, усиливающих эффекторную функцию.

34. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 33, при этом Fc-домен или его функциональный фрагмент представляет собой Fc-домен IgG1 или его функциональный фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- a) S298A, E333A и K334A;
- b) S239D и I332E;
- c) S239D, A330L и I332E;
- d) P247I и A339D или A339Q;
- e) D280H и K290S;
- f) D280H, K290S и либо S298D либо S298V;
- g) F243L, R292P и Y300L;
- h) F243L, R292P, Y300L и P396L;

- i) F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L;
- j) G236A, S239D и I332E;
- k) K326A и E333A;
- l) K326W и E333S;
- m) K290E, S298G и T299A;
- n) K290E, S298G, T299A и K326E;
- o) K290N, S298G и T299A;
- p) K290N, S298G, T299A и K326E;
- q) K334V;
- r) L235S, S239D и K334V;
- s) K334V и Q311M, S239D, F243V, E294L или S298T;
- t) E233L, Q311M и K334V;
- u) L234I, Q311M и K334V;
- v) K334V и S298T, A330M или A330F;
- w) K334V, Q311M и либо A330M либо A330F;
- x) K334V, S298T и либо A330M либо A330F;
- y) K334V, S239D и либо A330M либо S298T;
- z) L234Y, Y296W и K290Y, F243V или E294L;
- aa) Y296W и либо L234Y либо K290Y;
- ab) S239D, A330S и I332E,
- ac) V264I;
- ad) F243L и V264I;
- ae) L328M;
- af) I332E;
- ag) L328M и I332E;
- ah) V264I и I332E;
- ai) S239E и I332E;
- aj) S239Q и I332E;
- ak) S239E;
- al) A330Y;
- am) I332D;
- an) L328I и I332E;
- ao) L328Q и I332E;
- ap) V264T;
- aq) V240I;
- ar) V266I;
- as) S239D;
- at) S239D и I332D;
- au) S239D и I332N;
- av) S239D и I332Q;

- aw) S239E и I332D;
- ax) S239E и I332N;
- ay) S239E и I332Q;
- az) S239N и I332D;
- ba) S239N и I332E;
- bb) S239Q и I332D;
- bc) A330Y и I332E;
- bd) V264I, A330Y и I332E;
- be) A330L и I332E;
- bf) V264I, A330L и I332E;
- bg) L234E, L234Y или L234I;
- bh) L235D, L235S, L235Y или L235I;
- bi) S239T;
- bj) V240M;
- bk) V264Y;
- bl) A330I;
- bm) N325T;
- bn) I332E и L328D, L328V, L328T или L328I;
- bo) V264I, I332E и либо S239E либо S239Q;
- bp) S239E, V264I, A330Y и I332E;
- bq) A330Y, I332E и либо S239D либо S239N;
- br) A330L, I332E и либо S239D либо S239N;
- bs) V264I, S298A и I332E;
- bt) S298A, I332E и либо S239D либо S239N;
- bu) S239D, V264I и I332E;
- bv) S239D, V264I, S298A и I332E;
- bw) S239D, V264I, A330L и I332E;
- bх) S239D, I332E и A330I;
- by) P230A;
- bz) P230A, E233D и I332E;
- ca) E272Y;
- cb) K274T, K274E, K274R, K274L или K274Y;
- cd) F275W;
- ce) N276L;
- cf) Y278T;
- cg) V302I;
- ch) E318R;
- ci) S324D, S324I или S324V;
- cj) K326I или K326T;
- ck) T335D, T335R или T335Y;

cl) V240I и V266I;

cm) S239D, A330Y, I332E и L234I;

cn) S239D, A330Y, I332E и L235D;

co) S239D, A330Y, I332E и V240I;

cp) S239D, A330Y, I332E и V264T; или

cq) S239D, A330Y, I332E, и либо K326E, либо K326T, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

35. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-32, при этом Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154.

36. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 2-21, при этом домен продления периода полужизни представляет собой полипептид альбумина или его фрагмент.

37. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 36, при этом полипептид альбумина или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 171.

38. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 2-21, при этом домен продления периода полужизни представляет собой альбуминсвязывающий белок или его фрагмент.

39. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 38, при этом альбуминсвязывающий белок или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 172-174 и 252-259.

40. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 2-21, при этом домен продления периода полужизни представляет собой IgG-связывающий белок или его фрагмент.

41. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 40, при этом IgG-связывающий белок или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 175-186.

42. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 2-21, при этом домен продления периода полужизни представляет собой полиаминокислотную последовательность.

43. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 42, при этом полиаминокислотная последовательность представляет собой полипептид PAS или полипептид XTEN.

44. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 43, при этом полипептид PAS содержит по меньшей мере 25, по меньшей мере 50, по меньшей мере 100, по меньшей мере 150, по меньшей мере 200, по меньшей мере 250, по меньшей мере 300, по меньшей мере 400, по меньшей мере 500, по меньшей мере 600, по меньшей мере 700, по меньшей мере 800, по меньшей мере 900, по меньшей мере 1000, по меньшей мере

мере 1100, по меньшей мере 1200, по меньшей мере 1300, по меньшей мере 1500, по меньшей мере 2000, по меньшей мере 2500 или по меньшей мере 3000 аминокислотных остатков, при этом каждый аминокислотный остаток представляет собой остаток либо пролина, либо аланина.

45. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 43, при этом полипептид PAS содержит по меньшей мере 25, по меньшей мере 50, по меньшей мере 100, по меньшей мере 150, по меньшей мере 200, по меньшей мере 250, по меньшей мере 300, по меньшей мере 400, по меньшей мере 500, по меньшей мере 600, по меньшей мере 700, по меньшей мере 800, по меньшей мере 900, по меньшей мере 1000, по меньшей мере 1100, по меньшей мере 1200, по меньшей мере 1300, по меньшей мере 1500, по меньшей мере 2000, по меньшей мере 2500 или по меньшей мере 3000 аминокислотных остатков, при этом каждый аминокислотный остаток выбирают из группы, состоящей из остатка пролина, аланина и серина.

46. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 43, при этом полипептид XTEN содержит аминокислотную последовательность из от приблизительно 25 до приблизительно 500, от приблизительно 200 до приблизительно 1000, от приблизительно 500 до приблизительно 1500, от приблизительно 1000 до приблизительно 2000 или от приблизительно 1500 до приблизительно 3000 аминокислотных остатков, при этом по меньшей мере приблизительно 70%, 75%, 80% или 85% аминокислотной последовательности состоит из мотивов неперекрывающихся последовательностей, в которых каждый из мотивов имеет от 5 до 100 аминокислотных остатков, от 5 до 50 аминокислотных остатков или от 9 до 36 аминокислотных остатков, и при этом 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%, по меньшей мере 99% или 100% каждого из мотива состоит из четырех, пяти или шести типов аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из глицина (G), аланина (A), серина (S), треонина (T), глутамата (E) и пролина (P), и при этом содержание любого одного типа аминокислоты в полноразмерном полипептиде XTEN не превышает приблизительно 40%, приблизительно 35%, приблизительно 30%, приблизительно 25%, приблизительно 15%, приблизительно 10% или приблизительно 8%.

47. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-46, при этом маскированный цитокин дополнительно содержит одну или несколько полимерных цепей ПЭГ, присоединенных к маскированному цитокину.

48. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 47, при этом одна или несколько полимерных цепей ПЭГ присоединены к цитокину или его функциональному фрагменту и/или домену продления периода полужизни.

49. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-48, при этом маскированный цитокин модифицирован или дополнительно модифицирован путем изменения аминокислотной последовательности маскированного

цитокина таким образом, что образуются один или несколько дополнительных N-связанных и/или O-связанных сайтов гликозилирования.

50. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 49, при этом маскированный цитокин модифицирован или дополнительно модифицирован путем изменения аминокислотной последовательности маскированного цитокина таким образом, что одну или несколько дополнительных трипептидных последовательностей аспарагин-Х-серин (N-X-S) и/или аспарагин-Х-треонин (N-X-T) вводят в аминокислотную последовательность маскированного цитокина, при этом Х представляет собой любую аминокислоту, кроме пролина.

51. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 49 или вариантом осуществления 50, при этом маскированный цитокин модифицирован или дополнительно модифицирован путем изменения аминокислотной последовательности маскированного цитокина таким образом, что образуются один или несколько дополнительных остатков серина или треонина вводят в аминокислотную последовательность маскированного цитокина.

52. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-51, при этом первый линкер содержит первый расщепляемый пептид.

53. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-52, при этом первый линкер содержит первый N-концевой спейсерный домен и/или первый С-концевой спейсерный домен.

54. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 53, при этом первый линкер содержит:

- a) первый N-концевой спейсерный домен, первый расщепляемый пептид и первый С-концевой спейсерный домен;
- b) первый N-концевой спейсерный домен и первый расщепляемый пептид;
- c) первый N-концевой спейсерный домен и первый С-концевой спейсерный домен;
- d) первый расщепляемый пептид и первый С-концевой спейсерный домен;
- e) первый N-концевой спейсерный домен; или
- f) первый С-концевой спейсерный домен.

55. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 53 или вариантом осуществления 54, при этом первый расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

56. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 53-55, при этом первый N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

57. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 53-55, при этом первый С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную

последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

58. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 53 или вариантом осуществления 54, при этом первый расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242.

59. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 58, при этом аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, содержит N-конец и C-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с N-концом или C-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

60. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 1-59, при этом первый линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812.

61. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 3-60, при этом второй линкер содержит второй расщепляемый пептид.

62. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 3-61, при этом второй линкер содержит второй N-концевой спейсерный домен и/или второй C-концевой спейсерный домен.

63. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 62, при этом второй линкер содержит:

а) второй N-концевой спейсерный домен, второй расщепляемый пептид и второй C-концевой спейсерный домен;

б) второй N-концевой спейсерный домен и второй расщепляемый пептид;

с) второй N-концевой спейсерный домен и второй C-концевой спейсерный домен;

д) второй расщепляемый пептид и второй C-концевой спейсерный домен;

е) второй N-концевой спейсерный домен; или

ф) второй C-концевой спейсерный домен.

64. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 61-63, при этом второй расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

65. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 62-64, при этом второй N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268,

269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

66. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 62-65, при этом второй С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

67. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 62 или вариантом осуществления 63, при этом второй расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242.

68. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 67, при этом аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, содержит N-конец и С-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с N-концом или С-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

69. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 3-68, при этом второй линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812.

70. Маскированный цитокин, содержащий:

а) первый маскирующий фрагмент;

б) цитокин или его функциональный фрагмент,

при этом первый маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством первого линкера; и

с) второй маскирующий фрагмент,

при этом второй маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством второго линкера.

71. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 70, дополнительно содержащий домен продления периода полужизни, который связан либо с первым маскирующим фрагментом, либо со вторым маскирующим фрагментом.

72. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 71, при этом домен продления периода полужизни связан либо с первым маскирующим фрагментом, либо со вторым маскирующим фрагментом посредством третьего линкера.

73. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 71 или вариантом осуществления 72, при этом:

і) маскированный цитокин содержит в направлении от N- к С-концу или от С- к N-концу: а) первый маскирующий фрагмент; б) первый линкер; с) цитокин или его

функциональный фрагмент; d) второй линкер и e) второй маскирующий фрагмент; и f) домен продления периода полужизни;

ii) маскированный цитокин содержит в направлении от N- к C-концу или от C- к N-концу: a) первый маскирующий фрагмент; b) первый линкер; c) цитокин или его функциональный фрагмент; d) второй линкер; e) второй маскирующий фрагмент; f) третий линкер; и g) домен продления периода полужизни;

iii) маскированный цитокин содержит в направлении от N- к C-концу или от C- к N-концу: a) второй маскирующий фрагмент; b) второй линкер; c) цитокин или его функциональный фрагмент; d) первый линкер; e) первый маскирующий фрагмент; и f) домен продления периода полужизни; или

iv) маскированный цитокин содержит в направлении от N- к C-концу или от C- к N-концу: a) второй маскирующий фрагмент; b) второй линкер; c) цитокин или его функциональный фрагмент; d) первый линкер и e) первый маскирующий фрагмент; f) третий линкер; и g) домен продления периода.

74. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 70-73, при этом цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент.

75. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 74, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит:

a) аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-8, 160, 230, 243-251, 260, 775-792 и 813-822; или

b) аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: H16I, L18C, D20A, D20L, D20F, N29L, R38A, F42A, F42K, F42E, F43A, Y45A, Y45N, Y45R, E62A, E62R, E62S, L72G, L80F, R81D, L85V, I86V, I92F и C125S.

76. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 74 или вариантом осуществления 75, при этом первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 10, 161-165, 187-218, 221-229, 231 и 261, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 10, 161-165, 187-218, 221-229, 231 и 261, и при этом аминокислотная последовательность первого маскирующего фрагмента и аминокислотная последовательность второго маскирующего фрагмента являются различными.

77. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 74-76, при этом:

a) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или 231, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 187-218, 221-226 и 261; или

b) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 187-218, 221-226 и 261, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или 231.

78. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 70-73, при этом цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-15 или его функциональный фрагмент.

79. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 78, при этом полипептид IL-15 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167.

80. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 78 или вариантом осуществления 79, при этом:

a) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229 и 261;

b) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229 и 261, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825;

c) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825: R24A, R26A, K34A, S40A, L42A и P67A, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229 и 261; или

d) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229 и 261, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825: R24A, R26A, K34A, S40A, L42A и P67A.

81. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 71-80, при этом домен продления периода полужизни представляет собой антитело или его фрагмент.

82. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 81, при этом антитело или его фрагмент содержит либо полипептид тяжелой цепи, либо полипептид легкой цепи.

83. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 82, при этом полипептид тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность,

выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 168 и 169.

84. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 82, при этом полипептид тяжелой цепи содержит одну или нескольких аминокислотных замен, изменяющих эффекторную функцию.

85. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 84, при этом полипептид тяжелой цепи:

a) представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG1 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) N297A, N297G или N297Q;
- ii) L234A и L235A;
- iii) C220S, C226S, C229S и P238S;
- iv) C226S, C229S, E233P, L234V и L235A;
- v) L234F, L235E и P331S;
- vi) S267E и L328F;
- vii) D265A;
- viii) L234A, L235A и P329G;

b) представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG2 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) V234A и G237A;
- ii) H268Q, V309L, A330S и A331S; или
- iii) V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S; или

c) представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG4 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) L235A, G237A и E318A;
- ii) S228P, L234A и L235A;
- iii) H268Q, V309L, A330S и P331S; или

iv) S228P и L235A, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

86. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 84, при этом полипептид тяжелой цепи содержит одну или нескольких аминокислотных замен, усиливающих эффекторную функцию.

87. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 86, при этом полипептид тяжелой цепи представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG1 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- a) S298A, E333A и K334A;
- b) S239D и I332E;
- c) S239D, A330L и I332E;
- d) P247I и A339D или A339Q;
- e) D280H и K290S;
- f) D280H, K290S и либо S298D либо S298V;

- g) F243L, R292P и Y300L;
- h) F243L, R292P, Y300L и P396L;
- i) F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L;
- j) G236A, S239D и I332E;
- k) K326A и E333A;
- l) K326W и E333S;
- m) K290E, S298G и T299A;
- n) K290E, S298G, T299A и K326E;
- o) K290N, S298G и T299A;
- p) K290N, S298G, T299A и K326E;
- q) K334V;
- r) L235S, S239D и K334V;
- s) K334V и Q311M, S239D, F243V, E294L или S298T;
- t) E233L, Q311M и K334V;
- u) L234I, Q311M и K334V;
- v) K334V и S298T, A330M или A330F;
- w) K334V, Q311M и либо A330M либо A330F;
- x) K334V, S298T и либо A330M либо A330F;
- y) K334V, S239D и либо A330M либо S298T;
- z) L234Y, Y296W и K290Y, F243V или E294L;
- aa) Y296W и либо L234Y либо K290Y;
- ab) S239D, A330S и I332E,
- ac) V264I;
- ad) F243L и V264I;
- ae) L328M;
- af) I332E;
- ag) L328M и I332E;
- ah) V264I и I332E;
- ai) S239E и I332E;
- aj) S239Q и I332E;
- ak) S239E;
- al) A330Y;
- am) I332D;
- an) L328I и I332E;
- ao) L328Q и I332E;
- ap) V264T;
- aq) V240I;
- ar) V266I;
- as) S239D;
- at) S239D и I332D;

- au) S239D и I332N;
- av) S239D и I332Q;
- aw) S239E и I332D;
- ax) S239E и I332N;
- ay) S239E и I332Q;
- az) S239N и I332D;
- ba) S239N и I332E;
- bb) S239Q и I332D;
- bc) A330Y и I332E;
- bd) V264I, A330Y и I332E;
- be) A330L и I332E;
- bf) V264I, A330L и I332E;
- bg) L234E, L234Y или L234I;
- bh) L235D, L235S, L235Y или L235I;
- bi) S239T;
- bj) V240M;
- bk) V264Y;
- bl) A330I;
- bm) N325T;
- bn) I332E и L328D, L328V, L328T или L328I;
- bo) V264I, I332E и либо S239E либо S239Q;
- bp) S239E, V264I, A330Y и I332E;
- bq) A330Y, I332E и либо S239D либо S239N;
- br) A330L, I332E и либо S239D либо S239N;
- bs) V264I, S298A и I332E;
- bt) S298A, I332E и либо S239D либо S239N;
- bu) S239D, V264I и I332E;
- bv) S239D, V264I, S298A и I332E;
- bw) S239D, V264I, A330L и I332E;
- bх) S239D, I332E и A330I;
- by) P230A;
- bz) P230A, E233D и I332E;
- ca) E272Y;
- cb) K274T, K274E, K274R, K274L или K274Y;
- cd) F275W;
- ce) N276L;
- cf) Y278T;
- cg) V302I;
- ch) E318R;
- ci) S324D, S324I или S324V;

cj) K326I или K326T;

ck) T335D, T335R или T335Y;

cl) V240I и V266I;

cm) S239D, A330Y, I332E и L234I;

cn) S239D, A330Y, I332E и L235D;

co) S239D, A330Y, I332E и V240I;

cp) S239D, A330Y, I332E и V264T; или

cq) S239D, A330Y, I332E, и либо K326E, либо K326T, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

88. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 82, при этом полипептид легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157 или 170.

89. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 81, при этом антитело или его фрагмент представляет собой домен кристаллизующегося фрагмента (Fc-домен) или его фрагмент.

90. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 89, при этом Fc-домен или его фрагмент содержит одну или нескольких аминокислотных замен, изменяющих эффекторную функцию.

91. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 90, при этом Fc-домен или его фрагмент:

a) представляет собой Fc-домен IgG1 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

i) N297A, N297G или N297Q;

ii) L234A и L235A;

iii) C220S, C226S, C229S и P238S;

iv) C226S, C229S, E233P, L234V и L235A;

v) L234F, L235E и P331S;

vi) S267E и L328F;

vii) D265A;

viii) L234A, L235A и P329G;

b) представляет собой Fc-домен IgG2 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

i) V234A и G237A;

ii) H268Q, V309L, A330S и A331S; или

iii) V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S; или

c) представляет собой Fc-домен IgG4 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

i) L235A, G237A и E318A;

ii) S228P, L234A и L235A;

iii) H268Q, V309L, A330S и P331S; или

iv) S228P и L235A, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

92. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 90, при этом Fc-домен или его фрагмент содержит одну или нескольких аминокислотных замен, усиливающих эффекторную функцию.

93. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 92, при этом Fc-домен или его фрагмент представляет собой Fc-домен IgG1 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- a) S298A, E333A и K334A;
- b) S239D и I332E;
- c) S239D, A330L и I332E;
- d) P247I и A339D или A339Q;
- e) D280H и K290S;
- f) D280H, K290S и либо S298D либо S298V;
- g) F243L, R292P и Y300L;
- h) F243L, R292P, Y300L и P396L;
- i) F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L;
- j) G236A, S239D и I332E;
- k) K326A и E333A;
- l) K326W и E333S;
- m) K290E, S298G и T299A;
- n) K290E, S298G, T299A и K326E;
- o) K290N, S298G и T299A;
- p) K290N, S298G, T299A и K326E;
- q) K334V;
- r) L235S, S239D и K334V;
- s) K334V и Q311M, S239D, F243V, E294L или S298T;
- t) E233L, Q311M и K334V;
- u) L234I, Q311M и K334V;
- v) K334V и S298T, A330M или A330F;
- w) K334V, Q311M и либо A330M либо A330F;
- x) K334V, S298T и либо A330M либо A330F;
- y) K334V, S239D и либо A330M либо S298T;
- z) L234Y, Y296W и K290Y, F243V или E294L;
- aa) Y296W и либо L234Y либо K290Y;
- ab) S239D, A330S и I332E,
- ac) V264I;
- ad) F243L и V264I;
- ae) L328M;
- af) I332E;

- ag) L328M и I332E;
- ah) V264I и I332E;
- ai) S239E и I332E;
- aj) S239Q и I332E;
- ak) S239E;
- al) A330Y;
- am) I332D;
- an) L328I и I332E;
- ao) L328Q и I332E;
- ap) V264T;
- aq) V240I;
- ar) V266I;
- as) S239D;
- at) S239D и I332D;
- au) S239D и I332N;
- av) S239D и I332Q;
- aw) S239E и I332D;
- ax) S239E и I332N;
- ay) S239E и I332Q;
- az) S239N и I332D;
- ba) S239N и I332E;
- bb) S239Q и I332D;
- bc) A330Y и I332E;
- bd) V264I, A330Y и I332E;
- be) A330L и I332E;
- bf) V264I, A330L и I332E;
- bg) L234E, L234Y или L234I;
- bh) L235D, L235S, L235Y или L235I;
- bi) S239T;
- bj) V240M;
- bk) V264Y;
- bl) A330I;
- bm) N325T;
- bn) I332E и L328D, L328V, L328T или L328I;
- bo) V264I, I332E и либо S239E либо S239Q;
- bp) S239E, V264I, A330Y и I332E;
- bq) A330Y, I332E и либо S239D либо S239N;
- br) A330L, I332E и либо S239D либо S239N;
- bs) V264I, S298A и I332E;
- bt) S298A, I332E и либо S239D либо S239N;

bu) S239D, V264I и I332E;

bv) S239D, V264I, S298A и I332E;

bw) S239D, V264I, A330L и I332E;

bx) S239D, I332E и A330I;

by) P230A;

bz) P230A, E233D и I332E;

ca) E272Y;

cb) K274T, K274E, K274R, K274L или K274Y;

cd) F275W;

ce) N276L;

cf) Y278T;

cg) V302I;

ch) E318R;

ci) S324D, S324I или S324V;

cj) K326I или K326T;

ck) T335D, T335R или T335Y;

cl) V240I и V266I;

cm) S239D, A330Y, I332E и L234I;

cn) S239D, A330Y, I332E и L235D;

co) S239D, A330Y, I332E и V240I;

cp) S239D, A330Y, I332E и V264T; или

cq) S239D, A330Y, I332E, и либо K326E, либо K326T, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

94. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 89, при этом Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154.

95. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 71-77, при этом домен продления периода полужизни представляет собой полипептид альбумина или его функциональный фрагмент.

96. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 95, при этом полипептид альбумина или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 171.

97. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 71-77, при этом домен продления периода полужизни представляет собой альбуминсвязывающий белок или его функциональный фрагмент.

98. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 97, при этом альбуминсвязывающий белок или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 172-174 и 252-259.

99. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления

71-77, при этом домен продления периода полужизни представляет собой IgG-связывающий белок или его функциональный фрагмент.

100. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 99, при этом IgG-связывающий белок или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 175-186.

101. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 71-77, при этом домен продления периода полужизни представляет собой полиаминокислотную последовательность.

102. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 101, при этом полиаминокислотная последовательность представляет собой полипептид PAS или полипептид XTEN.

103. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 102, при этом полипептид PAS содержит по меньшей мере 25, по меньшей мере 50, по меньшей мере 100, по меньшей мере 150, по меньшей мере 200, по меньшей мере 250, по меньшей мере 300, по меньшей мере 400, по меньшей мере 500, по меньшей мере 600, по меньшей мере 700, по меньшей мере 800, по меньшей мере 900, по меньшей мере 1000, по меньшей мере 1100, по меньшей мере 1200, по меньшей мере 1300, по меньшей мере 1500, по меньшей мере 2000, по меньшей мере 2500 или по меньшей мере 3000 аминокислотных остатков, при этом каждый аминокислотный остаток представляет собой остаток либо пролина, либо аланина.

104. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 102, при этом полипептид PAS содержит по меньшей мере 25, по меньшей мере 50, по меньшей мере 100, по меньшей мере 150, по меньшей мере 200, по меньшей мере 250, по меньшей мере 300, по меньшей мере 400, по меньшей мере 500, по меньшей мере 600, по меньшей мере 700, по меньшей мере 800, по меньшей мере 900, по меньшей мере 1000, по меньшей мере 1100, по меньшей мере 1200, по меньшей мере 1300, по меньшей мере 1500, по меньшей мере 2000, по меньшей мере 2500 или по меньшей мере 3000 аминокислотных остатков, при этом каждый аминокислотный остаток выбирают из группы, состоящей из остатка пролина, аланина и серина.

105. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 102, при этом полипептид XTEN содержит аминокислотную последовательность из от приблизительно 25 до приблизительно 500, от приблизительно 200 до приблизительно 1000, от приблизительно 500 до приблизительно 1500, от приблизительно 1000 до приблизительно 2000 или от приблизительно 1500 до приблизительно 3000 аминокислотных остатков, при этом по меньшей мере приблизительно 70%, 75%, 80% или 85% аминокислотной последовательности состоит из мотивов неперекрывающихся последовательностей, в которых каждый из мотивов имеет от 5 до 100 аминокислотных остатков, от 5 до 50 аминокислотных остатков или от 9 до 36 аминокислотных остатков, и при этом 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%, по меньшей мере 99% или 100% каждого из мотива состоит из четырех, пяти или шести типов аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из глицина (G), аланина (A), серина (S), треонина (T), глутамата (E) и пролина (P), и при этом содержание любого одного типа аминокислоты в полноразмерном полипептиде ХТЕН не превышает приблизительно 40%, приблизительно 35%, приблизительно 30%, приблизительно 25%, приблизительно 15%, приблизительно 10% или приблизительно 8%.

106. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 70-105, при этом маскированный цитокин дополнительно содержит одну или несколько полимерных цепей ПЭГ, присоединенных к маскированному цитокину.

107. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 106, при этом одна или несколько полимерных цепей ПЭГ присоединены к цитокину или его функциональному фрагменту и/или домену продления периода полужизни.

108. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 70-107, при этом маскированный цитокин модифицирован или дополнительно модифицирован путем изменения аминокислотной последовательности маскированного цитокина таким образом, что образуются один или несколько дополнительных N-связанных и/или O-связанных сайтов гликозилирования.

109. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 108, при этом маскированный цитокин модифицирован или дополнительно модифицирован путем изменения аминокислотной последовательности маскированного цитокина таким образом, что одну или несколько дополнительных трипептидных последовательностей аспарагин-Х-серин (N-X-S) и/или аспарагин-Х-треонин (N-X-T) вводят в аминокислотную последовательность маскированного цитокина, при этом X представляет собой любую аминокислоту, кроме пролина.

110. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 108 или вариантом осуществления 109, при этом маскированный цитокин модифицирован или дополнительно модифицирован путем изменения аминокислотной последовательности маскированного цитокина таким образом, что образуются один или несколько дополнительных остатков серина или треонина вводят в аминокислотную последовательность маскированного цитокина.

111. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 70-110, при этом первый линкер содержит первый расщепляемый пептид.

112. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 70-111, при этом первый линкер содержит первый N-концевой спейсерный домен и/или первый C-концевой спейсерный домен.

113. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 112, при этом первый линкер содержит:

а) первый N-концевой спейсерный домен, первый расщепляемый пептид и первый

С-концевой спейсерный домен;

- b) первый N-концевой спейсерный домен и первый расщепляемый пептид;
- c) первый N-концевой спейсерный домен и первый С-концевой спейсерный домен;
- d) первый расщепляемый пептид и первый С-концевой спейсерный домен;
- e) первый N-концевой спейсерный домен; или
- f) первый С-концевой спейсерный домен.

114. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 111-113, при этом первый расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

115. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 112-114, при этом первый N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

116. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 112-115, при этом первый С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

117. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 111-113, при этом первый расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242.

118. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 117, при этом аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, содержит N-конец и С-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с N-концом или С-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

119. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 70-118, при этом первый линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812.

120. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 70-119, при этом второй линкер содержит второй расщепляемый пептид.

121. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 70-120, при этом второй линкер содержит второй N-концевой спейсерный домен и/или второй С-концевой спейсерный домен.

122. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 121, при

этом второй линкер содержит:

- a) второй N-концевой спейсерный домен, второй расщепляемый пептид и второй C-концевой спейсерный домен;
- b) второй N-концевой спейсерный домен и второй расщепляемый пептид;
- c) второй N-концевой спейсерный домен и второй C-концевой спейсерный домен;
- d) второй расщепляемый пептид и второй C-концевой спейсерный домен;
- e) второй N-концевой спейсерный домен; или
- f) второй C-концевой спейсерный домен.

123. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 120-122, при этом второй расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

124. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 121-123, при этом второй N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

125. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 121-124, при этом второй C-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

126. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 120-122, при этом второй расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242.

127. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 126, при этом аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, содержит N-конец и C-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с N-концом или C-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

128. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 70-127, при этом второй линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812.

129. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 72-128, при этом третий линкер содержит третий расщепляемый пептид.

130. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 72-129, при этом третий линкер содержит третий N-концевой спейсерный домен и/или

третий С-концевой спейсерный домен.

131. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 130, при этом третий линкер содержит:

- a) третий N-концевой спейсерный домен, третий расщепляемый пептид и третий С-концевой спейсерный домен;
- b) третий N-концевой спейсерный домен и третий расщепляемый пептид;
- c) третий N-концевой спейсерный домен и третий С-концевой спейсерный домен;
- d) третий расщепляемый пептид и третий С-концевой спейсерный домен;
- e) третий N-концевой спейсерный домен; или
- f) третий С-концевой спейсерный домен.

132. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 129-131, при этом третий расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

133. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 130-132, при этом третий N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

134. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 130-133, при этом третий С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

135. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 129-131, при этом третий расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242.

136. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 135, при этом аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, содержит N-конец и С-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с N-концом или С-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

137. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 72-136, при этом третий линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812.

138. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 52-137, при этом первый расщепляемый пептид, второй расщепляемый

пептид и/или третий расщепляемый пептид являются субстратом для протеазы, которая локализована в области или ткани, экспрессирующей цитокиновый рецептор.

139. Маскированный цитокиновый рецептор в соответствии с вариантом осуществления 138, при этом цитокиновый рецептор представляет собой рецептор цитокина IL-2 или рецептор цитокина IL-15.

140. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-139, при этом одно или несколько из первого расщепляемого пептида, второго расщепляемого пептида и третьего расщепляемого пептида расщепляется с помощью одного или нескольких ферментов, выбранных из группы, состоящей из: ABHD12, ADAM12, ABHD12B, ABHD13, ABHD17A, ADAM19, ADAM20, ADAM21, ADAM28, ADAM30, ADAM33, ADAM8, ABHD17A, ADAMDEC1, ADAMTS1, ADAMTS10, ADAMTS12, ADAMTS13, ADAMTS14, ADAMTS15, ADAMTS16, ADAMTS17, ADAMTS18, ADAMTS19, ADAMTS2, ADAMTS20, ADAMTS3, ADAMTS4, ABHD17B, ADAMTS5, ADAMTS6, ADAMTS7, ADAMTS8, ADAMTS9, ADAMTSL1, ADAMTSL2, ADAMTSL3, ABHD17C, ADAMTSL5, ASTL, BMP1, CELA1, CELA2A, CELA2B, CELA3A, CELA3B, ADAM10, ADAM15, ADAM17, ADAM9, ADAMTS4, CTSE, CTSF, ADAMTSL4, CMA1, CTRB1, CTRC, CTSO, CTRL, CTSA, CTSW, CTSB, CTSC, CTSD, ESP1, CTSG, CTSH, GZMA, GZMB, GZMH, CTSK, GZMM, CTSL, CTSS, CTSV, CTSZ, HTRA4, KLK10, KLK11, KLK13, KLK14, KLK2, KLK4, DPP4, KLK6, KLK7, KLKB1, ECE1, ECE2, ECEL1, MASP2, MEP1A, MEP1B, ELANE, FAP, GZMA, MMP11, GZMK, HGFAC, HPN, HTRA1, MMP11, MMP16, MMP17, MMP19, HTRA2, MMP20, MMP21, HTRA3, HTRA4, KEL, MMP23B, MMP24, MMP25, MMP26, MMP27, MMP28, KLK5, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, LGMN, LNPEP, MASP1, PAPP, PAPP2, PCSK1, NAPSA, PCSK5, PCSK6, MME, MMP1, MMP10, PLAT, PLAU, PLG, PRSS1, PRSS12, PRSS2, PRSS21, PRSS3, PRSS33, PRSS4, PRSS55, PRSS57, MMP12, PRSS8, PRSS9, PRTN3, MMP13, MMP14, ST14, TMPRSS10, TMPRSS11A, TMPRSS11D, TMPRSS11E, TMPRSS11F, TMPRSS12, TMPRSS13, MMP15, TMPRSS15, MMP2, TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4, TMPRSS5, TMPRSS6, TMPRSS7, TMPRSS9, NRDC, OVCH1, PAMR1, PCSK3, PHEX, TINAG, TPSAB1, TPSD1 и TPSG1.

141. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 2-69 и 71-140, при этом домен продления периода полужизни конъюгирован с агентом.

142. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 141, при этом агент представляет собой ингибитор полимеризации тубулина, агент, повреждающий ДНК, или ингибитор синтеза ДНК.

143. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 142, при этом агент представляет собой майтансиноид, ауристатин, димер пирролобензодиазепина (PBD), калихеамицин, дуокармицин, димер индолинобензодиазепина или производное экзатекана Dxd.

144. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 141, при этом агент представляет собой иммуностимулятор.

145. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 144, при этом иммуностимулятор представляет собой стимулятор агониста генов интерферона (STING) или агонист толл-подобных рецепторов (TLR).

146. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 145, при этом агонист STING представляет собой циклический динуклеотид (CDN).

147. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 146, при этом CDN выбирают из группы, состоящей из cGAMP, с-ди-AMP, с-ди-GMP, сAIMP, с-ди-IMP, 4-(2-хлор-6-фторбензил)-N-(фуран-2-илметил)-3-оксо-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-карбоксамид.

148. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 145, при этом агонист TLR представляет собой агонист TLR, выбранный из группы, состоящей из TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 и TLR10.

149. Маскированный цитокин, содержащий:

а) первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни;

б) маскирующий фрагмент; и

с) цитокин или его функциональный фрагмент,

при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни,

при этом цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни, и

при этом первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни.

150. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 149, при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера; и/или при этом цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера.

151. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 149 или вариантом осуществления 150, при этом цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент.

152. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 151, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-8, 160, 230, 243-251, 260, 775-792 и 813-822.

153. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 151, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотную последовательность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента, которая снижает аффинность полипептида IL-2 или его

функционального фрагмента в отношении CD25 (IL-2R α).

154. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 153, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: R38A, F42A, F42K, F42E, K43A, Y45A, Y45N, Y45R, E62A, E62R, E62S и L72G.

155. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 151, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотную последовательность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента, которая повышает аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R β или IL-2R γ .

156. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 155, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: H16I, L18C, D20A, D20L, D20F, N29L, L80F, R81D, L85V, I86V и I92F.

157. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 153 или вариантом осуществления 154, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью дополнительного введения одной или нескольких аминокислотных замен, которые повышают аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R β или IL-2R γ .

158. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 157, при этом одну или несколько аминокислотных замен, которые повышают аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R β или IL-2R γ , выбирают из группы, состоящей из H16I, L18C, D20A, D20L, D20F, N29L, L80F, R81D, L85V, I86V и I92F.

159. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 151, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотную последовательность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента, которая стабилизирует полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент.

160. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 159, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью введения одной из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: C125S, C125A и C125G.

161. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 153-158, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью дополнительного введения одной или нескольких аминокислотных замен, которые

стабилизируют полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент.

162. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 161, при этом одна или несколько замен, которые стабилизируют полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент, представляют собой C125S, C125A или C125G.

163. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 151-162, при этом маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 10, 161-165, 187-218, 221-229, 231, 261, 826 и 827.

164. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 149 или вариантом осуществления 150, при этом цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-15 или его функциональный фрагмент.

165. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 164, при этом полипептид IL-15 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167.

166. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 164 или вариантом осуществления 165, при этом маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229, 232-234, 261 и 823-827.

167. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 164 или вариантом осуществления 165, при этом маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825: R24A, R26A, K34A, S40A, L42A и P67A.

168. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 149-167, при этом первый домен продления периода полужизни представляет собой первое антитело или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой второе антитело или его фрагмент.

169. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 168, при этом:

а) первое антитело или его фрагмент содержит первый полипептид тяжелой цепи, и второе антитело или его фрагмент содержит второй полипептид легкой цепи; или

б) первое антитело или его фрагмент содержит первый полипептид легкой цепи, и второе антитело или его фрагмент содержит второй полипептид тяжелой цепи.

170. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 169, при этом первый полипептид тяжелой цепи или второй полипептид тяжелой цепи содержит одну или нескольких аминокислотных замен, изменяющих эффекторную функцию.

171. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 170, при этом первый полипептид тяжелой цепи или второй полипептид тяжелой цепи:

а) представляет собой изотип IgG1 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

i) N297A, N297G или N297Q;

ii) L234A и L235A;

iii) C220S, C226S, C229S и P238S;

iv) C226S, C229S, E233P, L234V и L235A;

v) L234F, L235E и P331S;

vi) S267E и L328F;

vii) D265A;

viii) L234A, L235A и P329G;

b) представляет собой изотип IgG2 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

i) V234A и G237A;

ii) H268Q, V309L, A330S и A331S; или

iii) V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S; или

c) представляет собой изотип IgG4 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

i) L235A, G237A и E318A;

ii) S228P, L234A и L235A;

iii) H268Q, V309L, A330S и P331S; или

iv) S228P и L235A, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

172. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 170, при этом первый полипептид тяжелой цепи или второй полипептид тяжелой цепи содержит одну или нескольких аминокислотных замен, усиливающих эффекторную функцию.

173. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 172, при этом первый полипептид тяжелой цепи или второй полипептид тяжелой цепи представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG1 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

a) S298A, E333A и K334A;

b) S239D и I332E;

c) S239D, A330L и I332E;

d) P247I и A339D или A339Q;

e) D280H и K290S;

f) D280H, K290S и либо S298D либо S298V;

g) F243L, R292P и Y300L;

h) F243L, R292P, Y300L и P396L;

i) F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L;

j) G236A, S239D и I332E;

k) K326A и E333A;

l) K326W и E333S;

m) K290E, S298G и T299A;

- n) K290E, S298G, T299A и K326E;
- o) K290N, S298G и T299A;
- p) K290N, S298G, T299A и K326E;
- q) K334V;
- r) L235S, S239D и K334V;
- s) K334V и Q331M, S239D, F243V, E294L или S298T;
- t) E233L, Q311M и K334V;
- u) L234I, Q311M и K334V;
- v) K334V и S298T, A330M или A330F;
- w) K334V, Q311M и либо A330M либо A330F;
- x) K334V, S298T и либо A330M либо A330F;
- y) K334V, S239D и либо A330M либо S298T;
- z) L234Y, Y296W и K290Y, F243V или E294L;
- aa) Y296W и либо L234Y либо K290Y;
- ab) S239D, A330S и I332E,
- ac) V264I;
- ad) F243L и V264I;
- ae) L328M;
- af) I332E;
- ag) L328M и I332E;
- ah) V264I и I332E;
- ai) S239E и I332E;
- aj) S239Q и I332E;
- ak) S239E;
- al) A330Y;
- am) I332D;
- an) L328I и I332E;
- ao) L328Q и I332E;
- ap) V264T;
- aq) V240I;
- ar) V266I;
- as) S239D;
- at) S239D и I332D;
- au) S239D и I332N;
- av) S239D и I332Q;
- aw) S239E и I332D;
- ax) S239E и I332N;
- ay) S239E и I332Q;
- az) S239N и I332D;
- ba) S239N и I332E;

- bb) S239Q и I332D;
- bc) A330Y и I332E;
- bd) V264I, A330Y и I332E;
- be) A330L и I332E;
- bf) V264I, A330L и I332E;
- bg) L234E, L234Y или L234I;
- bh) L235D, L235S, L235Y или L235I;
- bi) S239T;
- bj) V240M;
- bk) V264Y;
- bl) A330I;
- bm) N325T;
- bn) I332E и L328D, L328V, L328T или L328I;
- bo) V264I, I332E и либо S239E либо S239Q;
- bp) S239E, V264I, A330Y и I332E;
- bq) A330Y, I332E и либо S239D либо S239N;
- br) A330L, I332E и либо S239D либо S239N;
- bs) V264I, S298A и I332E;
- bt) S298A, I332E и либо S239D либо S239N;
- bu) S239D, V264I и I332E;
- bv) S239D, V264I, S298A и I332E;
- bw) S239D, V264I, A330L и I332E;
- bх) S239D, I332E и A330I;
- by) P230A;
- bz) P230A, E233D и I332E;
- ca) E272Y;
- cb) K274T, K274E, K274R, K274L или K274Y;
- cd) F275W;
- ce) N276L;
- cf) Y278T;
- cg) V302I;
- ch) E318R;
- ci) S324D, S324I или S324V;
- cj) K326I или K326T;
- ck) T335D, T335R или T335Y;
- cl) V240I и V266I;
- cm) S239D, A330Y, I332E и L234I;
- cn) S239D, A330Y, I332E и L235D;
- co) S239D, A330Y, I332E и V240I;
- cp) S239D, A330Y, I332E и V264T; или

сq) S239D, A330Y, I332E, и либо K326E, либо K326T, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

174. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 169, при этом первый полипептид тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 168 и 169, и второй полипептид тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 168 и 169.

175. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 169, при этом первый полипептид легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157 или 170, и второй полипептид легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157 или 170.

176. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 168, при этом первое антитело или его фрагмент представляет собой первый домен кристаллизующегося фрагмента (Fc-домен) или его фрагмент, и второе антитело или его фрагмент представляет собой второй Fc-домен или его фрагмент.

177. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 176, при этом первый Fc-домен или его фрагмент и/или второй Fc-домен или его фрагмент содержит одну или нескольких аминокислотных замен, изменяющих эффекторную функцию.

178. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 177, при этом первый Fc-домен или его фрагмент и/или второй Fc-домен или его:

a) представляет собой Fc-домен IgG1 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) N297A, N297G или N297Q;
- ii) L234A и L235A;
- iii) C220S, C226S, C229S и P238S;
- iv) C226S, C229S, E233P, L234V и L235A;
- v) L234F, L235E и P331S;
- vi) S267E и L328F;
- vii) D265A;
- viii) L234A, L235A и P329G;

b) представляет собой Fc-домен IgG2 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) V234A и G237A;
- ii) H268Q, V309L, A330S и A331S; или
- iii) V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S; или

c) представляет собой Fc-домен IgG4 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) L235A, G237A и E318A;
- ii) S228P, L234A и L235A;

iii) H268Q, V309L, A330S и P331S; или

iv) S228P и L235A, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

179. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 177, при этом первый Fc-домен или его фрагмент и/или второй Fc-домен или его фрагмент содержит одну или нескольких аминокислотных замен, усиливающих эффекторную функцию.

180. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 179, при этом первый Fc-домен или его фрагмент и/или второй Fc-домен или его фрагмент представляет собой Fc-домен IgG1 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- a) S298A, E333A и K334A;
- b) S239D и I332E;
- c) S239D, A330L и I332E;
- d) P247I и A339D или A339Q;
- e) D280H и K290S;
- f) D280H, K290S и либо S298D либо S298V;
- g) F243L, R292P и Y300L;
- h) F243L, R292P, Y300L и P396L;
- i) F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L;
- j) G236A, S239D и I332E;
- k) K326A и E333A;
- l) K326W и E333S;
- m) K290E, S298G и T299A;
- n) K290E, S298G, T299A и K326E;
- o) K290N, S298G и T299A;
- p) K290N, S298G, T299A и K326E;
- q) K334V;
- r) L235S, S239D и K334V;
- s) K334V и Q331M, S239D, F243V, E294L или S298T;
- t) E233L, Q311M и K334V;
- u) L234I, Q311M и K334V;
- v) K334V и S298T, A330M или A330F;
- w) K334V, Q311M и либо A330M либо A330F;
- x) K334V, S298T и либо A330M либо A330F;
- y) K334V, S239D и либо A330M либо S298T;
- z) L234Y, Y296W и K290Y, F243V или E294L;
- aa) Y296W и либо L234Y либо K290Y;
- ab) S239D, A330S и I332E,
- ac) V264I;

- ad) F243L и V264I;
- ae) L328M;
- af) I332E;
- ag) L328M и I332E;
- ah) V264I и I332E;
- ai) S239E и I332E;
- aj) S239Q и I332E;
- ak) S239E;
- al) A330Y;
- am) I332D;
- an) L328I и I332E;
- ao) L328Q и I332E;
- ap) V264T;
- aq) V240I;
- ar) V266I;
- as) S239D;
- at) S239D и I332D;
- au) S239D и I332N;
- av) S239D и I332Q;
- aw) S239E и I332D;
- ax) S239E и I332N;
- ay) S239E и I332Q;
- az) S239N и I332D;
- ba) S239N и I332E;
- bb) S239Q и I332D;
- bc) A330Y и I332E;
- bd) V264I, A330Y и I332E;
- be) A330L и I332E;
- bf) V264I, A330L и I332E;
- bg) L234E, L234Y или L234I;
- bh) L235D, L235S, L235Y или L235I;
- bi) S239T;
- bj) V240M;
- bk) V264Y;
- bl) A330I;
- bm) N325T;
- bn) I332E и L328D, L328V, L328T или L328I;
- bo) V264I, I332E и либо S239E либо S239Q;
- bp) S239E, V264I, A330Y и I332E;
- bq) A330Y, I332E и либо S239D либо S239N;

- br) A330L, I332E и либо S239D либо S239N;
- bs) V264I, S298A и I332E;
- bt) S298A, I332E и либо S239D либо S239N;
- bu) S239D, V264I и I332E;
- bv) S239D, V264I, S298A и I332E;
- bw) S239D, V264I, A330L и I332E;
- bx) S239D, I332E и A330I;
- by) P230A;
- bz) P230A, E233D и I332E;
- ca) E272Y;
- cb) K274T, K274E, K274R, K274L или K274Y;
- cd) F275W;
- ce) N276L;
- cf) Y278T;
- cg) V302I;
- ch) E318R;
- ci) S324D, S324I или S324V;
- cj) K326I или K326T;
- ck) T335D, T335R или T335Y;
- cl) V240I и V266I;
- cm) S239D, A330Y, I332E и L234I;
- cn) S239D, A330Y, I332E и L235D;
- co) S239D, A330Y, I332E и V240I;
- cp) S239D, A330Y, I332E и V264T; или
- cq) S239D, A330Y, I332E, и либо K326E, либо K326T, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

181. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 176, при этом:

- a) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156;
- b) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155;
- c) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154;
- d) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 265, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156;

последовательность SEQ ID NO: 793, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 773;

s) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 773, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 793;

t) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625;

u) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796;

v) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156;

w) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625; или

x) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796.

182. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 149-167, при этом первый домен продления периода полужизни представляет собой первый scFv или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой второй scFv или его фрагмент.

183. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 149-167, при этом первый домен продления периода полужизни представляет собой первый Fc-домен или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой второй Fc-домен или его фрагмент, и при этом первый Fc-домен или его фрагмент связан со вторым Fc-доменом или его фрагментом.

184. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 183, при этом первый Fc-домен или его фрагмент связан со вторым Fc-доменом или его фрагментом посредством третьего линкера.

185. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 149-167, при этом:

a) первый домен продления периода полужизни представляет собой scFv или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой антитело или его фрагмент; или

b) первый домен продления периода полужизни представляет собой антитело или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой scFv или его фрагмент.

186. Маскированный цитокин в соответствии с любым из пп. 168-181, при этом модификации, способствующие ассоциации первого и второго доменов продления периода полужизни, включают:

а) введение мутаций S354C и T366W в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций Y349C, T366S, L368A и Y407V во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

б) введение мутаций S354C и T366W во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций Y349C, T366S, L368A и Y407V в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

в) введение мутаций K392D и K409D в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E356K во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

г) введение мутаций K392D и K409D во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E356K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

д) введение мутаций S364H и F405A в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций Y349T и T394F во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

е) введение мутаций S364H и F405A во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций Y349T и T394F в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

187. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 168-181, при этом аминокислотная последовательность первого антитела или его фрагмента и аминокислотная последовательность второго антитела или его фрагмента образуются с помощью:

а) введения мутаций S354C и T366W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций Y349C, T366S, L368A и Y407V в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

б) введения мутаций S354C и T366W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций Y349C, T366S, L368A и Y407V в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

в) введения мутаций K392D и K409D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E356K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

г) введения мутаций K392D и K409D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E356K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в

соответствии с системой нумерации Kabat EU;

е) введения мутаций S364H и F405A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций Y349T и T394F в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

ф) введения мутаций S364H и F405A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций Y349T и T394F в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

188. Маскированный цитокин в соответствии с любым из пп. 168-181, при этом модификации, способствующие ассоциации первого и второго доменов продления периода полужизни, включают:

а) введение мутации Y407T в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T366Y во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

б) введение мутации Y407A в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T366W во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

с) введение мутации F405A в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T394W во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

д) введение мутации F405W в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T394S во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

е) введение мутации Y407T в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T366Y во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ф) введение мутаций T366Y и F405A в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций T394W и Y407T во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

г) введение мутаций T366W и F405W в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций T394S и Y407A во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

h) введение мутаций F405W и Y407A в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций T366W и T394S во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

i) введение мутации T366W в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций T366S, L368A и Y407V во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

j) введение мутации Y407T во второй антитело или его фрагмент и введение

мутации T366Y в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

k) введение мутации Y407A во второе антитело или его фрагмент и введение мутации T366W в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

l) введение мутации F405A во второе антитело или его фрагмент и введение мутации T394W в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

m) введение мутации F405W во второй антитело или его фрагмент и введение мутации T394S в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

n) введение мутации Y407T во второй антитело или его фрагмент и введение мутации T366Y в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

o) введение мутаций T366Y и F405A во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций T394W и Y407T в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

p) введение мутаций T366W и F405W во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций T394S и Y407A в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

q) введение мутаций F405W и Y407A во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций T366W и T394S в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

r) введение мутации T366W во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций T366S, L368A и Y407V в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

189. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 168-181, при этом аминокислотная последовательность первого антитела или его фрагмента и аминокислотная последовательность второго антитела или его фрагмента образуются с помощью:

a) введения мутации Y407T в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации T366Y в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

b) введения мутации Y407A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации T366W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

c) введения мутации F405A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации T394W в аминокислотную последовательность SEQ ID

NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

n) введения мутации Y407T в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации T366Y в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

o) введения мутаций T366Y и F405A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций T394W и Y407T в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

p) введения мутаций T366W и F405W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций T394S и Y407A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

q) введения мутаций F405W и Y407A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций T366W и T394S в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

r) введения мутации T366W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций T366S, L368A и Y407V в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

190. Маскированный цитокин в соответствии с любым из пп. 168-181, при этом модификации, способствующие ассоциации первого и второго доменов продления периода полужизни, включают:

a) введение мутации K409E в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399K во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

b) введение мутации K409E в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399R во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

c) введение мутации K409D в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399K во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

d) введение мутации K409D в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399R во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

e) введение мутации K392E в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399R во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ag) введение мутации D399K во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций K409D и K360D в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

ah) введение мутаций K409D и K439D во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E356K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

191. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 168-181, при этом аминокислотная последовательность первого антитела или его фрагмента и аминокислотная последовательность второго антитела или его фрагмента образуются с помощью:

a) введения мутации K409E в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

b) введения мутации K409E в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399R в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

c) введения мутации K409D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

d) введения мутации K409D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399R в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

e) введения мутации K392E в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399R в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

f) введения мутации K392E в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

g) введения мутации K392D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399R в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

h) введения мутации K392D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO:

ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K, E356K и E357K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ac) введения мутаций K409D и K392D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ad) введения мутаций K409D и K392D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E356K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ae) введения мутаций K409D и K392D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E357K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

af) введения мутаций K409D и K370D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E357K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ag) введения мутации D399K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций K409D и K360D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

ah) введения мутаций K409D и K439D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E356K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

192. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 150-191, при этом первый линкер содержит первый расщепляемый пептид; и/или при этом второй линкер содержит второй расщепляемый пептид.

193. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 150-192, при этом первый линкер содержит первый N-концевой спейсерный домен и/или первый C-концевой спейсерный домен.

194. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 193, при этом первый линкер содержит:

a) первый N-концевой спейсерный домен, первый расщепляемый пептид и первый C-концевой спейсерный домен;

b) первый N-концевой спейсерный домен и первый расщепляемый пептид;

c) первый N-концевой спейсерный домен и первый C-концевой спейсерный домен;

d) первый расщепляемый пептид и первый C-концевой спейсерный домен;

- e) первый N-концевой спейсерный домен; или
- f) первый C-концевой спейсерный домен.

195. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 150-194, при этом второй линкер содержит второй N-концевой спейсерный домен и/или второй C-концевой спейсерный домен.

196. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 195, при этом второй линкер содержит:

- a) второй N-концевой спейсерный домен, второй расщепляемый пептид и второй C-концевой спейсерный домен;
- b) второй N-концевой спейсерный домен и второй расщепляемый пептид;
- c) второй N-концевой спейсерный домен и второй C-концевой спейсерный домен;
- d) второй расщепляемый пептид и второй C-концевой спейсерный домен;
- e) второй N-концевой спейсерный домен; или
- f) второй C-концевой спейсерный домен.

197. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 192-196, при этом первый расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555; и/или при этом второй расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

198. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 193-197, при этом первый N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 263, 268, 269, 727, 794, 799 и 857-878, и/или первый C-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

199. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 192-196, при этом первый расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242.

200. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 199, при этом аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, содержит N-конец и C-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с N-концом или C-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

201. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 195-200,

при этом второй N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799, и/или второй С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

202. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 192-201, при этом второй расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242.

203. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 202, при этом аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, содержит N-конец и С-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с N-концом или С-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

204. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 150-203, при этом первый линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812; и/или второй линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812.

205. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 184-204, при этом третий линкер содержит третий N-концевой спейсерный домен и/или третий С-концевой спейсерный домен.

206. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 205, при этом третий N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799, и/или третий С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

207. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 192-206, при этом первый расщепляемый пептид и/или второй расщепляемый пептид являются субстратом для протеазы, которая локализована в области или ткани, экспрессирующей цитокиновый рецептор.

208. Маскированный цитокиновый рецептор в соответствии с вариантом осуществления 207, при этом цитокиновый рецептор представляет собой рецептор цитокина IL-2 или рецептор цитокина IL-15.

209. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 184-208, при этом первый расщепляемый пептид и/или второй расщепляемый пептид расщепляется с помощью одного или нескольких ферментов, выбранных из группы, состоящей из: ABHD12, ADAM12, ABHD12B, ABHD13, ABHD17A, ADAM19, ADAM20, ADAM21, ADAM28, ADAM30, ADAM33, ADAM8, ABHD17A, ADAMDEC1, ADAMTS1, ADAMTS10, ADAMTS12, ADAMTS13, ADAMTS14, ADAMTS15, ADAMTS16, ADAMTS17, ADAMTS18, ADAMTS19, ADAMTS2, ADAMTS20, ADAMTS3, ADAMTS4, ABHD17B, ADAMTS5, ADAMTS6, ADAMTS7, ADAMTS8, ADAMTS9, ADAMTSL1, ADAMTSL2, ADAMTSL3, ABHD17C, ADAMTSL5, ASTL, BMP1, CELA1, CELA2A, CELA2B, CELA3A, CELA3B, ADAM10, ADAM15, ADAM17, ADAM9, ADAMTS4, CTSE, CTSF, ADAMTSL4, CMA1, CTRB1, CTRC, CTSO, CTRI, CTSA, CTSW, CTSB, CTSC, CTSD, ESP1, CTSG, CTSH, GZMA, GZMB, GZMH, CTSK, GZMM, CTSL, CTSS, CTSV, CTSZ, HTRA4, KLK10, KLK11, KLK13, KLK14, KLK2, KLK4, DPP4, KLK6, KLK7, KLKB1, ECE1, ECE2, ECEL1, MASP2, MEP1A, MEP1B, ELANE, FAP, GZMA, MMP11, GZMK, HGFAC, HPN, HTRA1, MMP11, MMP16, MMP17, MMP19, HTRA2, MMP20, MMP21, HTRA3, HTRA4, KEL, MMP23B, MMP24, MMP25, MMP26, MMP27, MMP28, KLK5, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, LGMN, LNPEP, MASP1, PAPP, PAPP2, PCSK1, NAPS, PCSK5, PCSK6, MME, MMP1, MMP10, PLAT, PLAU, PLG, PRSS1, PRSS12, PRSS2, PRSS21, PRSS3, PRSS33, PRSS4, PRSS55, PRSS57, MMP12, PRSS8, PRSS9, PRTN3, MMP13, MMP14, ST14, TMPRSS10, TMPRSS11A, TMPRSS11D, TMPRSS11E, TMPRSS11F, TMPRSS12, TMPRSS13, MMP15, TMPRSS15, MMP2, TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4, TMPRSS5, TMPRSS6, TMPRSS7, TMPRSS9, NRDC, OVCH1, PAMR1, PCSK3, PHEX, TINAG, TPSAB1, TPSD1 и TPSG1.

210. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 149-209, при этом первый домен продления периода полужизни и/или второй домен продления периода полужизни конъюгирован с агентом.

211. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 210, при этом агент представляет собой ингибитор полимеризации тубулина, агент, повреждающий ДНК, или ингибитор синтеза ДНК.

212. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 211, при этом агент представляет собой майтансиноид, ауристати́н, димер пирролобензодиазепина (PBD), калихеамицин, дуокармицин, димер индолинобензодиазепина или производное экзатекана Dxd.

213. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 210, при этом агент представляет собой иммуностимулятор.

214. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 213, при этом иммуностимулятор представляет собой стимулятор агониста генов интерферона (STING) или агонист толл-подобных рецепторов (TLR).

215. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 214, при этом агонист STING представляет собой циклический динуклеотид (CDN).

216. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 215, при этом CDN выбирают из группы, состоящей из сGAMP, с-ди-AMP, с-ди-GMP, сAIMP, с-ди-IMP, 4-(2-хлор-6-фторбензил)-N-(фуран-2-илметил)-3-оксо-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-карбоксоамида.

217. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 214, при этом агонист TLR представляет собой агонист TLR, выбранный из группы, состоящей из TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 и TLR10.

218. Маскированный цитокин, содержащий:

а) первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни;

б) первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент; и

с) цитокин или его функциональный фрагмент,

при этом первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни,

при этом второй маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом,

при этом либо второй маскирующий фрагмент, либо цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни, и

при этом первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни.

219. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 218, при этом:

а) первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера; и/или

б) либо второй маскирующий фрагмент, либо цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера.

220. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 218 или вариантом осуществления 219, при этом второй маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством третьего линкера.

221. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 218-220, при этом цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент.

222. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 221, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 230, 243-251, 260, 775-792 и 813-822.

223. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 221, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную

последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотную последовательность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента, которая снижает аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении CD25 (IL-2R α).

224. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 223, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: R38A, F42A, F42K, F42E, K43A, Y45A, Y45N, Y45R, E62A, E62R, E62S и L72G.

225. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 221, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотную последовательность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента, которая повышает аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R β или IL-2R γ .

226. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 225, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: H16I, L18C, D20A, D20L, D20F, N29L, L80F, R81D, L85V, I86V и I92F.

227. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 223 или вариантом осуществления 224, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью дополнительного введения одной или нескольких аминокислотных замен, которые повышают аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R β или IL-2R γ .

228. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 227, при этом одну или несколько аминокислотных замен, которые повышают аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R β или IL-2R γ , выбирают из группы, состоящей из H16I, L18C, D20A, D20L, D20F, N29L, L80F, R81D, L85V, I86V и I92F.

229. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 221, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотную последовательность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента, которая стабилизирует полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент.

230. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 229, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью введения одной из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: C125S, C125A и C125G.

231. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 223-228, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью дополнительного введения одной или нескольких аминокислотных замен, которые стабилизируют полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент.

232. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 231, при этом одна или несколько замен, которые стабилизируют полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент, представляют собой C125S, C125A или C125G.

233. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 221-232, при этом первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 10, 161-165, 187-218, 221-229, 231, 261, 826 и 827, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 10, 161-165, 187-218, 221-229, 231, 261, 826 и 827, и при этом аминокислотная последовательность первого маскирующего фрагмента и аминокислотная последовательность второго маскирующего фрагмента являются различными.

234. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 221-233, при этом:

а) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или 231, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 187-218, 221-226, 261, 826 и 827; или

б) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 187-218, 221-226, 261, 826 и 827, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или 231.

235. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 218-220, при этом цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-15 или его функциональный фрагмент.

236. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 235, при этом полипептид IL-15 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167.

237. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 235 или вариантом осуществления 236, при этом

а) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229, 261, 826 и 827;

б) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229, 261, 826 и 827, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность,

выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825;

с) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825: R24A, R26A, K34A, S40A, L42A и P67A, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229, 261, 826 и 827; или

d) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229, 261, 826 и 827, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825: R24A, R26A, K34A, S40A, L42A и P67A.

238. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 218-237, при этом первый домен продления периода полужизни представляет собой первое антитело или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой второе антитело или его фрагмент.

239. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 238, при этом:

a) первое антитело или его фрагмент содержит первый полипептид тяжелой цепи, и второе антитело или его фрагмент содержит второй полипептид легкой цепи; или

b) первое антитело или его фрагмент содержит первый полипептид легкой цепи, и второе антитело или его фрагмент содержит второй полипептид тяжелой цепи.

240. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 239, при этом первый полипептид тяжелой цепи или второй полипептид тяжелой цепи содержит одну или нескольких аминокислотных замен, изменяющих эффекторную функцию.

241. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 240, при этом первый полипептид тяжелой цепи или второй полипептид тяжелой цепи:

a) представляет собой изотип IgG1 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

i) N297A, N297G или N297Q;

ii) L234A и L235A;

iii) C220S, C226S, C229S и P238S;

iv) C226S, C229S, E233P, L234V и L235A;

v) L234F, L235E и P331S;

vi) S267E и L328F;

vii) D265A;

viii) L234A, L235A и P329G;

b) представляет собой изотип IgG2 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

i) V234A и G237A;

ii) H268Q, V309L, A330S и A331S; или

iii) V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S; или

с) представляет собой изотип IgG4 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

i) L235A, G237A и E318A;

ii) S228P, L234A и L235A;

iii) H268Q, V309L, A330S и P331S; или

iv) S228P и L235A, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

242. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 240, при этом первый полипептид тяжелой цепи или второй полипептид тяжелой цепи содержит одну или нескольких аминокислотных замен, усиливающих эффекторную функцию.

243. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 242, при этом первый полипептид тяжелой цепи или второй полипептид тяжелой цепи представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG1 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

a) S298A, E333A и K334A;

b) S239D и I332E;

c) S239D, A330L и I332E;

d) P247I и A339D или A339Q;

e) D280H и K290S;

f) D280H, K290S и либо S298D либо S298V;

g) F243L, R292P и Y300L;

h) F243L, R292P, Y300L и P396L;

i) F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L;

j) G236A, S239D и I332E;

k) K326A и E333A;

l) K326W и E333S;

m) K290E, S298G и T299A;

n) K290E, S298G, T299A и K326E;

o) K290N, S298G и T299A;

p) K290N, S298G, T299A и K326E;

q) K334V;

r) L235S, S239D и K334V;

s) K334V и Q331M, S239D, F243V, E294L или S298T;

t) E233L, Q311M и K334V;

u) L234I, Q311M и K334V;

v) K334V и S298T, A330M или A330F;

w) K334V, Q311M и либо A330M либо A330F;

- x) K334V, S298T и либо A330M либо A330F;
- y) K334V, S239D и либо A330M либо S298T;
- z) L234Y, Y296W и K290Y, F243V или E294L;
- aa) Y296W и либо L234Y либо K290Y;
- ab) S239D, A330S и I332E,
- ac) V264I;
- ad) F243L и V264I;
- ae) L328M;
- af) I332E;
- ag) L328M и I332E;
- ah) V264I и I332E;
- ai) S239E и I332E;
- aj) S239Q и I332E;
- ak) S239E;
- al) A330Y;
- am) I332D;
- an) L328I и I332E;
- ao) L328Q и I332E;
- ap) V264T;
- aq) V240I;
- ar) V266I;
- as) S239D;
- at) S239D и I332D;
- au) S239D и I332N;
- av) S239D и I332Q;
- aw) S239E и I332D;
- ax) S239E и I332N;
- ay) S239E и I332Q;
- az) S239N и I332D;
- ba) S239N и I332E;
- bb) S239Q и I332D;
- bc) A330Y и I332E;
- bd) V264I, A330Y и I332E;
- be) A330L и I332E;
- bf) V264I, A330L и I332E;
- bg) L234E, L234Y или L234I;
- bh) L235D, L235S, L235Y или L235I;
- bi) S239T;
- bj) V240M;
- bk) V264Y;

- bl) A330I;
- bm) N325T;
- bn) I332E и L328D, L328V, L328T или L328I;
- bo) V264I, I332E и либо S239E либо S239Q;
- bp) S239E, V264I, A330Y и I332E;
- bq) A330Y, I332E и либо S239D либо S239N;
- br) A330L, I332E и либо S239D либо S239N;
- bs) V264I, S298A и I332E;
- bt) S298A, I332E и либо S239D либо S239N;
- bu) S239D, V264I и I332E;
- bv) S239D, V264I, S298A и I332E;
- bw) S239D, V264I, A330L и I332E;
- bx) S239D, I332E и A330I;
- by) P230A;
- bz) P230A, E233D и I332E;
- ca) E272Y;
- cb) K274T, K274E, K274R, K274L или K274Y;
- cd) F275W;
- ce) N276L;
- cf) Y278T;
- cg) V302I;
- ch) E318R;
- ci) S324D, S324I или S324V;
- cj) K326I или K326T;
- ck) T335D, T335R или T335Y;
- cl) V240I и V266I;
- cm) S239D, A330Y, I332E и L234I;
- cn) S239D, A330Y, I332E и L235D;
- co) S239D, A330Y, I332E и V240I;
- cp) S239D, A330Y, I332E и V264T; или
- cq) S239D, A330Y, I332E, и либо K326E, либо K326T, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

244. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 239, при этом первый полипептид тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 168 и 169, и второй полипептид тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 168 и 169.

245. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 239, при этом первый полипептид легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157 или 170, и второй полипептид легкой цепи содержит аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 157 или 170.

246. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 238, при этом первое антитело или его фрагмент представляет собой первый домен кристаллизующегося фрагмента (Fc-домен) или его фрагмент, и второе антитело или его фрагмент представляет собой второй Fc-домен или его фрагмент.

247. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 246, при этом первый Fc-домен или его фрагмент и/или второй Fc-домен или его фрагмент содержит одну или нескольких аминокислотных замен, изменяющих эффекторную функцию.

248. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 247, при этом первый Fc-домен или его фрагмент и/или второй Fc-домен или его:

a) представляет собой Fc-домен IgG1 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) N297A, N297G или N297Q;
- ii) L234A и L235A;
- iii) C220S, C226S, C229S и P238S;
- iv) C226S, C229S, E233P, L234V и L235A;
- v) L234F, L235E и P331S;
- vi) S267E и L328F;
- vii) D265A;
- viii) L234A, L235A и P329G;

b) представляет собой Fc-домен IgG2 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) V234A и G237A;
- ii) H268Q, V309L, A330S и A331S; или
- iii) V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S; или

c) представляет собой Fc-домен IgG4 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) L235A, G237A и E318A;
- ii) S228P, L234A и L235A;
- iii) H268Q, V309L, A330S и P331S; или

iv) S228P и L235A, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

249. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 247, при этом первый Fc-домен или его фрагмент и/или второй Fc-домен или его фрагмент содержит одну или нескольких аминокислотных замен, усиливающих эффекторную функцию.

250. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 249, при этом первый Fc-домен или его фрагмент и/или второй Fc-домен или его фрагмент представляет собой Fc-домен IgG1 или его фрагмент и содержит аминокислотную

(аминокислотные) замену (замены):

- a) S298A, E333A и K334A;
- b) S239D и I332E;
- c) S239D, A330L и I332E;
- d) P247I и A339D или A339Q;
- e) D280H и K290S;
- f) D280H, K290S и либо S298D либо S298V;
- g) F243L, R292P и Y300L;
- h) F243L, R292P, Y300L и P396L;
- i) F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L;
- j) G236A, S239D и I332E;
- k) K326A и E333A;
- l) K326W и E333S;
- m) K290E, S298G и T299A;
- n) K290E, S298G, T299A и K326E;
- o) K290N, S298G и T299A;
- p) K290N, S298G, T299A и K326E;
- q) K334V;
- r) L235S, S239D и K334V;
- s) K334V и Q331M, S239D, F243V, E294L или S298T;
- t) E233L, Q311M и K334V;
- u) L234I, Q311M и K334V;
- v) K334V и S298T, A330M или A330F;
- w) K334V, Q311M и либо A330M либо A330F;
- x) K334V, S298T и либо A330M либо A330F;
- y) K334V, S239D и либо A330M либо S298T;
- z) L234Y, Y296W и K290Y, F243V или E294L;
- aa) Y296W и либо L234Y либо K290Y;
- ab) S239D, A330S и I332E,
- ac) V264I;
- ad) F243L и V264I;
- ae) L328M;
- af) I332E;
- ag) L328M и I332E;
- ah) V264I и I332E;
- ai) S239E и I332E;
- aj) S239Q и I332E;
- ak) S239E;
- al) A330Y;
- am) I332D;

- an) L328I и I332E;
- ao) L328Q и I332E;
- ap) V264T;
- aq) V240I;
- ar) V266I;
- as) S239D;
- at) S239D и I332D;
- au) S239D и I332N;
- av) S239D и I332Q;
- aw) S239E и I332D;
- ax) S239E и I332N;
- ay) S239E и I332Q;
- az) S239N и I332D;
- ba) S239N и I332E;
- bb) S239Q и I332D;
- bc) A330Y и I332E;
- bd) V264I, A330Y и I332E;
- be) A330L и I332E;
- bf) V264I, A330L и I332E;
- bg) L234E, L234Y или L234I;
- bh) L235D, L235S, L235Y или L235I;
- bi) S239T;
- bj) V240M;
- bk) V264Y;
- bl) A330I;
- bm) N325T;
- bn) I332E и L328D, L328V, L328T или L328I;
- bo) V264I, I332E и либо S239E либо S239Q;
- bp) S239E, V264I, A330Y и I332E;
- bq) A330Y, I332E и либо S239D либо S239N;
- br) A330L, I332E и либо S239D либо S239N;
- bs) V264I, S298A и I332E;
- bt) S298A, I332E и либо S239D либо S239N;
- bu) S239D, V264I и I332E;
- bv) S239D, V264I, S298A и I332E;
- bw) S239D, V264I, A330L и I332E;
- bx) S239D, I332E и A330I;
- by) P230A;
- bz) P230A, E233D и I332E;
- ca) E272Y;

cb) K274T, K274E, K274R, K274L или K274Y;

cd) F275W;

ce) N276L;

cf) Y278T;

cg) V302I;

ch) E318R;

ci) S324D, S324I или S324V;

cj) K326I или K326T;

ck) T335D, T335R или T335Y;

cl) V240I и V266I;

cm) S239D, A330Y, I332E и L234I;

cn) S239D, A330Y, I332E и L235D;

co) S239D, A330Y, I332E и V240I;

cp) S239D, A330Y, I332E и V264T; или

cq) S239D, A330Y, I332E, и либо K326E, либо K326T, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

251. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 246, при этом:

a) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156;

b) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155;

c) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154;

d) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 265, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156;

e) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 265;

f) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 616;

g) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 616, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155;

h) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796;

v) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156;

w) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625; или

x) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796.

252. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 218-237, при этом первый домен продления периода полужизни представляет собой первый scFv или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой второй scFv или его фрагмент.

253. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 218-237, при этом первый домен продления периода полужизни представляет собой первый Fc-домен или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой второй Fc-домен или его фрагмент, и при этом первый Fc-домен или его фрагмент связан со вторым Fc-доменом или его фрагментом.

254. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 253, при этом первый Fc-домен или его фрагмент связан со вторым Fc-доменом или его фрагментом посредством четвертого линкера.

255. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 218-237, при этом:

a) первый домен продления периода полужизни представляет собой scFv или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой антитело или его фрагмент; или

a) первый домен продления периода полужизни представляет собой антитело или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой scFv или его фрагмент.

256. Маскированный цитокин в соответствии с любым из пп. 238-251, при этом модификации, способствующие ассоциации первого и второго доменов продления периода полужизни, включают:

a) введение мутаций S354C и T366W в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций Y349C, T366S, L368A и Y407V во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

b) введение мутаций S354C и T366W во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций Y349C, T366S, L368A и Y407V в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

c) введение мутаций K392D и K409D в первое антитело или его фрагмент и

введение мутаций D399K и E356K во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

d) введение мутаций K392D и K409D во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E356K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

e) введение мутаций S364H и F405A в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций Y349T и T394F во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

f) введение мутаций S364H и F405A во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций Y349T и T394F в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

257. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 238-251, при этом аминокислотная последовательность первого антитела или его фрагмента и аминокислотная последовательность второго антитела или его фрагмента образуются с помощью:

a) введения мутаций S354C и T366W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций Y349C, T366S, L368A и Y407V в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

b) введения мутаций S354C и T366W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций Y349C, T366S, L368A и Y407V в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

c) введения мутаций K392D и K409D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E356K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

d) введения мутаций K392D и K409D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E356K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

e) введения мутаций S364H и F405A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций Y349T и T394F в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

f) введения мутаций S364H и F405A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций Y349T и T394F в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

258. Маскированный цитокин в соответствии с любым из пп. 238-251, при этом

модификации, способствующие ассоциации первого и второго доменов продления периода полужизни, включают:

a) введение мутации Y407T в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T366Y во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

b) введение мутации Y407A в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T366W во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

c) введение мутации F405A в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T394W во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

d) введение мутации F405W в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T394S во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

e) введение мутации Y407T в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T366Y во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

f) введение мутаций T366Y и F405A в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций T394W и Y407T во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

g) введение мутаций T366W и F405W в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций T394S и Y407A во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

h) введение мутаций F405W и Y407A в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций T366W и T394S во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

i) введение мутации T366W в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций T366S, L368A и Y407V во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

j) введение мутации Y407T во второй антитело или его фрагмент и введение мутации T366Y в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

k) введение мутации Y407A во второе антитело или его фрагмент и введение мутации T366W в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

l) введение мутации F405A во второе антитело или его фрагмент и введение мутации T394W в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

m) введение мутации F405W во второй антитело или его фрагмент и введение мутации T394S в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с

системой нумерации Kabat EU;

n) введение мутации Y407T во второй антитело или его фрагмент и введение мутации T366Y в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

o) введение мутаций T366Y и F405A во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций T394W и Y407T в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

p) введение мутаций T366W и F405W во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций T394S и Y407A в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

q) введение мутаций F405W и Y407A во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций T366W и T394S в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

r) введение мутации T366W во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций T366S, L368A и Y407V в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

259. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 238-251, при этом аминокислотная последовательность первого антитела или его фрагмента и аминокислотная последовательность второго антитела или его фрагмента образуются с помощью:

a) введения мутации Y407T в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации T366Y в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

b) введения мутации Y407A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации T366W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

c) введения мутации F405A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации T394W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

d) введения мутации F405W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации T394S в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

e) введения мутации Y407T в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации T366Y в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

р) введения мутаций T366W и F405W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций T394S и Y407A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

q) введения мутаций F405W и Y407A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций T366W и T394S в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

г) введения мутации T366W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций T366S, L368A и Y407V в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

260. Маскированный цитокин в соответствии с любым из пп. 238-251, при этом модификации, способствующие ассоциации первого и второго доменов продления периода полужизни, включают:

а) введение мутации K409E в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399K во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

б) введение мутации K409E в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399R во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

в) введение мутации K409D в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399K во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

г) введение мутации K409D в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399R во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

д) введение мутации K392E в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399R во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

е) введение мутации K392E в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399K во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ж) введение мутации K392D в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399R во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

з) введение мутации K392D в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399K во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

и) введение мутаций K409D и K360D в первое антитело или его фрагмент и

системой нумерации Kabat EU;

w) введение мутации K392E во второй антитело или его фрагмент и введение мутации D399K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

x) введение мутации K392D во второй антитело или его фрагмент и введение мутации D399R в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

y) введение мутации K392D во второй антитело или его фрагмент и введение мутации D399K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

z) введение мутаций K409D и K360D во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E356K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

aa) введение мутаций K409D и K370D во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E357K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ab) введение мутаций K409D и K392D во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K, E356K и E357K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ac) введение мутаций K409D и K392D во второе антитело или его фрагмент и введение мутации D399K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ad) введение мутаций K409D и K392D во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E356K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ae) введение мутаций K409D и K392D во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E357K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

af) введение мутаций K409D и K370D во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E357K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ag) введение мутации D399K во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций K409D и K360D в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

ah) введение мутаций K409D и K439D во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E356K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

261. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 238-251, при этом аминокислотная последовательность первого антитела или его фрагмента и аминокислотная последовательность второго антитела или его фрагмента

системой нумерации Kabat EU;

ae) введения мутаций K409D и K392D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E357K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

af) введения мутаций K409D и K370D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E357K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ag) введения мутации D399K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций K409D и K360D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

ah) введения мутаций K409D и K439D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E356K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

262. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 219-261, при этом первый линкер содержит первый расщепляемый пептид; и/или при этом второй линкер содержит второй расщепляемый пептид.

263. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 219-262, при этом первый линкер содержит первый N-концевой спейсерный домен и/или первый C-концевой спейсерный домен.

264. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 263, при этом первый линкер содержит:

a) первый N-концевой спейсерный домен, первый расщепляемый пептид и первый C-концевой спейсерный домен;

b) первый N-концевой спейсерный домен и первый расщепляемый пептид;

c) первый N-концевой спейсерный домен и первый C-концевой спейсерный домен;

d) первый расщепляемый пептид и первый C-концевой спейсерный домен;

e) первый N-концевой спейсерный домен; или

f) первый C-концевой спейсерный домен.

265. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 219-264, при этом второй линкер содержит второй N-концевой спейсерный домен и/или второй C-концевой спейсерный домен.

266. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 265, при этом второй линкер содержит:

a) второй N-концевой спейсерный домен, второй расщепляемый пептид и второй C-концевой спейсерный домен;

b) второй N-концевой спейсерный домен и второй расщепляемый пептид;

- с) второй N-концевой спейсерный домен и второй С-концевой спейсерный домен;
- d) второй расщепляемый пептид и второй С-концевой спейсерный домен;
- е) второй N-концевой спейсерный домен; или
- f) второй С-концевой спейсерный домен.

267. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 262-266, при этом первый расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555; и/или при этом второй расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

268. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 263-267, при этом первый N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799, и/или при этом первый С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

269. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 262-266, при этом первый расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242.

270. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 269, при этом аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, содержит N-конец и С-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с N-концом или С-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

271. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 265-270, при этом второй N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799, и/или второй С-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

272. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 262-271, при этом второй расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242.

273. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 272, при этом аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, содержит N-конец и C-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с N-концом или C-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

274. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 218-273, при этом первый линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812, и/или второй линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812.

275. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 219-274, при этом третий линкер содержит расщепляемый пептид.

276. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 219-275, при этом третий линкер содержит третий N-концевой спейсерный домен и/или третий C-концевой спейсерный домен.

277. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 276, при этом третий линкер содержит:

- a) третий N-концевой спейсерный домен, третий расщепляемый пептид и третий C-концевой спейсерный домен;
- b) третий N-концевой спейсерный домен и третий расщепляемый пептид;
- c) третий N-концевой спейсерный домен и третий C-концевой спейсерный домен;
- d) третий расщепляемый пептид и третий C-концевой спейсерный домен;
- e) третий N-концевой спейсерный домен; или
- f) третий C-концевой спейсерный домен.

278. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 275-277, при этом третий расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555; и/или при этом третий расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

279. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 276-278, при этом третий N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799, и/или третий C-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей

из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

280. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 275-279, при этом третий расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242.

281. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 280, при этом аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, содержит N-конец и C-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с N-концом или C-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

282. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 219-281, при этом третий линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812, и/или третий линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812.

283. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 254-282, при этом четвертый линкер содержит четвертый N-концевой спейсерный домен и/или четвертый C-концевой спейсерный домен.

284. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 283, при этом четвертый N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799, и/или четвертый C-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

285. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 262-284, при этом первый расщепляемый пептид, второй расщепляемый пептид и/или третий расщепляемый пептид являются субстратом для протеазы, которая солокализована в области или ткани, экспрессирующей цитокиновый рецептор.

286. Маскированный цитокиновый рецептор в соответствии с вариантом осуществления 285, при этом цитокиновый рецептор представляет собой рецептор цитокина IL-2 или рецептор цитокина IL-15.

287. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 262-286, при этом первый расщепляемый пептид, второй расщепляемый пептид и/или третий расщепляемый пептид расщепляется с помощью одного или нескольких ферментов, выбранных из группы, состоящей из: ABHD12, ADAM12, ABHD12B,

ABHD13, ABHD17A, ADAM19, ADAM20, ADAM21, ADAM28, ADAM30, ADAM33, ADAM8, ABHD17A, ADAMDEC1, ADAMTS1, ADAMTS10, ADAMTS12, ADAMTS13, ADAMTS14, ADAMTS15, ADAMTS16, ADAMTS17, ADAMTS18, ADAMTS19, ADAMTS2, ADAMTS20, ADAMTS3, ADAMTS4, ABHD17B, ADAMTS5, ADAMTS6, ADAMTS7, ADAMTS8, ADAMTS9, ADAMTSL1, ADAMTSL2, ADAMTSL3, ABHD17C, ADAMTSL5, ASTL, BMP1, CELA1, CELA2A, CELA2B, CELA3A, CELA3B, ADAM10, ADAM15, ADAM17, ADAM9, ADAMTS4, CTSE, CTSF, ADAMTSL4, CMA1, CTRB1, CTRC, CTSO, CTRI, CTSA, CTSW, CTSB, CTSC, CTSD, ESP1, CTSG, CTSH, GZMA, GZMB, GZMH, CTSK, GZMM, CTSL, CTSS, CTSV, CTSZ, HTRA4, KLK10, KLK11, KLK13, KLK14, KLK2, KLK4, DPP4, KLK6, KLK7, KLKB1, ECE1, ECE2, ECEL1, MASP2, MEP1A, MEP1B, ELANE, FAP, GZMA, MMP11, GZMK, HGFAC, HPN, HTRA1, MMP11, MMP16, MMP17, MMP19, HTRA2, MMP20, MMP21, HTRA3, HTRA4, KEL, MMP23B, MMP24, MMP25, MMP26, MMP27, MMP28, KLK5, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, LGMN, LNPEP, MASP1, PAPP1, PAPP2, PCSK1, NAPSA, PCSK5, PCSK6, MME, MMP1, MMP10, PLAT, PLAU, PLG, PRSS1, PRSS12, PRSS2, PRSS21, PRSS3, PRSS33, PRSS4, PRSS55, PRSS57, MMP12, PRSS8, PRSS9, PRTN3, MMP13, MMP14, ST14, TMPRSS10, TMPRSS11A, TMPRSS11D, TMPRSS11E, TMPRSS11F, TMPRSS12, TMPRSS13, MMP15, TMPRSS15, MMP2, TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4, TMPRSS5, TMPRSS6, TMPRSS7, TMPRSS9, NRDC, OVCH1, PAMR1, PCSK3, PHEX, TINAG, TPSAB1, TPSD1 и TPSG1.

288. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 218-287, при этом первый домен продления периода полужизни и/или второй домен продления периода полужизни конъюгирован с агентом.

289. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 288, при этом агент представляет собой ингибитор полимеризации тубулина, агент, повреждающий ДНК, или ингибитор синтеза ДНК.

290. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 289, при этом агент представляет собой майтансиноид, ауристати́н, димер пирролобензодиазепина (PBD), калихеамицин, дуокармицин, димер индолинобензодиазепина или производное экзатекана Dxd.

291. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 288, при этом агент представляет собой иммуностимулятор.

292. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 291, при этом иммуностимулятор представляет собой стимулятор агониста генов интерферона (STING) или агонист толл-подобных рецепторов (TLR).

293. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 292, при этом агонист STING представляет собой циклический динуклеотид (CDN).

294. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 293, при этом CDN выбирают из группы, состоящей из cGAMP, с-ди-AMP, с-ди-GMP, сAIMP, с-ди-IMP, 4-(2-хлор-6-фторбензил)-N-(фуран-2-илметил)-3-оксо-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-карбоксамид.

295. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 292, при этом агонист TLR представляет собой агонист TLR, выбранный из группы, состоящей из TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 и TLR10.

296. Нуклеиновая кислота, кодирующая маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-295 и 320-409.

297. Вектор, содержащий нуклеиновую кислоту в соответствии с вариантом осуществления 296.

298. Вектор в соответствии с вариантом осуществления 297, который представляет собой вектор экспрессии.

299. Клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту в соответствии с вариантом осуществления 296.

300. Способ получения маскированного цитокина, включающий культивирование клетки-хозяина в соответствии с вариантом осуществления 299 в условиях, которые приводят к образованию маскированного цитокина.

301. Способ в соответствии с вариантом осуществления 300, дополнительно включающий извлечение маскированного цитокина, образуемого клеткой-хозяином.

302. Маскированный цитокин, образуемый с помощью способа в соответствии с вариантом осуществления 300 или вариантом осуществления 301.

303. Композиция, содержащая маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-295 и 320-409.

304. Композиция, содержащая маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 302.

305. Композиция в соответствии с вариантом осуществления 303 или вариантом осуществления 304, дополнительно содержащая противовоспалительное средство или противораковое средство.

306. Композиция в соответствии с вариантом осуществления 305, при этом противораковое средство выбирают из группы, состоящей из ингибитора PD-1, ингибитора EGFR, ингибитора HER2, ингибитора VEGFR, ингибитора CTLA-4, ингибитора BTLA, ингибитора B7H4, ингибитора B7H3, ингибитора CSF1R, ингибитора HVEM, ингибитора CD27, ингибитора KIR, ингибитора NKG2A, агониста NKG2D, ингибитора TWEAK, ингибитора ALK, антитела, нацеливающегося на CD52, антитела, нацеливающегося на CCR4, ингибитора PD-L1, ингибитора KIT, ингибитора PDGFR, ингибитора BAFF, ингибитора HDAC, ингибитора лиганда VEGF, молекулы, нацеливающейся на CD19, молекулы, нацеливающейся на FOLR1, молекулы, нацеливающейся на DLL3, молекулы, нацеливающейся на DKK1, молекулы, нацеливающейся на MUC1, молекулы, нацеливающейся на MUC16, молекулы, нацеливающейся на PSMA, молекулы, нацеливающейся на MSLN, молекулы, нацеливающейся на NY-ES0-1, молекулы, нацеливающейся на B7H3, молекулы, нацеливающейся на B7H4, молекулы, нацеливающейся на BCMA, молекулы, нацеливающейся на CD29, молекулы, нацеливающейся на CD151, молекулы,

нацеливающейся на CD123, молекулы, нацеливающейся на CD33, молекулы, нацеливающейся на CD37, молекулы, нацеливающейся на CDH19, молекулы, нацеливающейся на CEA, молекулы, нацеливающейся на клаудин 18.2, молекулы, нацеливающейся на CLEC12A, молекулы, нацеливающейся на EGFRVIII, молекулы, нацеливающейся на EPCAM, молекулы, нацеливающейся на EPHA2, молекулы, нацеливающейся на FCRH5, молекулы, нацеливающейся на FLT3, молекулы, нацеливающейся на GD2, молекулы, нацеливающейся на глипикан 3, молекулы, нацеливающейся на grA33, молекулы, нацеливающейся на GPRC5D, молекулы, нацеливающейся на IL-23R, молекулы, нацеливающейся на IL-1RAP, молекулы, нацеливающейся на MCSP, молекулы, нацеливающейся на RON, молекулы, нацеливающейся на ROR1, молекулы, нацеливающейся на STEAP2, молекулы, нацеливающейся на TfR, молекулы, нацеливающейся на CD166, молекулы, нацеливающейся на TPBG, молекулы, нацеливающейся на TROP2, ингибитора протеасомы, ингибитора ABL, ингибитора CD30, ингибитора FLT3, ингибитора MET, ингибитора RET, ингибитора IL-1 β , ингибитора MEK, ингибитора ROS1, ингибитора BRAF, ингибитора CD38, ингибитора RANKL, ингибитора B4GALNT1, ингибитора SLAMF7, ингибитора IDH2, ингибитора mTOR, молекулы, нацеливающейся на CD20, ингибитора ВТК, ингибитора PI3K, ингибитора FLT3, ингибитора PARP, ингибитора CDK4, ингибитора CDK6, ингибитора FGFR, ингибитора RAF, ингибитора JAK1, ингибитора JAK2, ингибитора JAK3, ингибитора IL-6, ингибитора IL-17, ингибитора Smoothened, ингибитора IL-6R, ингибитора BCL2, ингибитора PTCH, ингибитора PIGF, ингибитора TGFB, агониста CD28, агониста CD3, агониста CD40, агониста GITR, агониста OX40, агониста VISTA, агониста CD137, ингибитора LAG3, ингибитора TIM3, ингибитора TIGIT и ингибитора IL-2R.

307. Композиция в соответствии с вариантом осуществления 305, при этом противовоспалительное средство представляет собой ингибитор циклооксигеназы (COX) или ингибитор NF- κ B.

308. Композиция в соответствии с вариантом осуществления 307, при этом ингибитор COX представляет собой ингибитор COX-1 и/или COX-2.

309. Композиция в соответствии с вариантом осуществления 307 или вариантом осуществления 308, при этом ингибитор COX выбирают из группы, состоящей из SC-560, FR122047, P6, мофезолака, TFAP, флурбипрофена, кетопрофена, целекоксиба, рофекоксиба, мелоксикама, пироксикама, деракоксиба, парекоксиба, вальдекоксиба, эторикоксиба, производного хромена, производного хромана, N-(2-циклогексилоксинитрофенил)метансульфонамида, парекоксиба, люмиракоксиба, RS 57067, T-614, BMS-347070, JTE-522, S-2474, SVT-2016, CT-3, ABT-963, SC-58125, нимесулида, флосулида, NS-398, L-745337, RWJ-63556, L-784512, дарбуфелона, CS-502, LAS-34475, LAS-34555, S-33516, диклофенака, мефенамовой кислоты, SD-8381, ибупрофена, напроксена, кеторолака, индометацина, аспирина, напроксена, толметина, пироксикама и меклофенамата.

310. Композиция в соответствии с вариантом осуществления 307, при этом ингибитор NF-κB выбирают из группы, состоящей из ингибитора комплекса ИКК, ингибитора расщепления IκB, ингибитора ядерной транслокации NF-κB, ингибитора ацетилирования p65, ингибитора связывания ДНК NF-κB, ингибитора транскрипции NF-κB и ингибитора индукции p53.

311. Композиция в соответствии с вариантом осуществления 307 или вариантом осуществления 308, при этом ингибитор NF-κB выбирают из группы, состоящей из TRCA-1, ингибитора активации NF-κB VI (BOT-64), BMS-345541, амлексанокса, SC-514 (GK-01140), IMD-0354, ИКК-16, BAY-11-7082, MG-115, MG-132, лактацистина, эпоксомидина, партенолида, карфилзомиба, MLN-4924 (певонедистата), JSH-23, ролипрама, галловой кислоты, анакардовой кислоты, GYY-4137, p-XSC, CV-3988, простагландин E2 (PGE2), LY-294002, вортманнина, мезаламина, хинакрин и флавопиридола.

312. Фармацевтическая композиция, содержащая маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-295 и 320-409, и фармацевтически приемлемый носитель.

313. Фармацевтическая композиция, содержащая маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 302, и фармацевтически приемлемый носитель.

314. Набор, содержащий маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-295 и 320-409, или композиция в соответствии с любым из вариантов осуществления 303-311, или фармацевтическая композиция в соответствии с вариантом осуществления 312 или 313.

315. Способ лечения или предупреждения неопластического заболевания у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества маскированного цитокина в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-295 и 320-409, или композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 303-311.

316. Способ в соответствии с вариантом осуществления изобретения 315, при этом неопластическое заболевание представляет собой рак.

317. Способ в соответствии с вариантом осуществления 316, при этом рак представляет собой лейкоз, лимфому, рак головы и шеи, колоректальный рак, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, меланому, рак молочной железы, нейробластому, рак легких, рак яичников, остеосаркому, рак мочевого пузыря, рак шейки матки, рак печени, рак почек, рак кожи или рак яичек.

318. Способ лечения или предупреждения воспалительного или аутоиммунного заболевания у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества маскированного цитокина в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-295 и 320-409, или композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления 303-311.

319. Способ в соответствии с вариантом осуществления 318, при этом воспалительное или аутоиммунное заболевание выбирают из группы, состоящей из атеросклероза, ожирения, воспалительного заболевания кишечника (IBD), ревматоидного артрита, аллергического энцефалита, псориаза, атопического кожного заболевания,

остеопороза, перитонита, гепатита, волчанки, целиакии, синдром Шегрена, ревматической полимиалгии, рассеянного склероза (MS), анкилозирующего спондилита, сахарного диабета 1 типа, гнездной алопеции, васкулита и височного артериита, реакции «трансплантат против хозяина» (GVHD), астмы, COPD, паранеопластического аутоиммунного заболевания, воспаления хряща, ювенильного артрита, ювенильного ревматоидного артрита, олигоартикулярного ювенильного ревматоидного артрита, полиартикулярного ювенильного ревматоидного артрита, ювенильного ревматоидного артрита с системным началом, ювенильного анкилозирующего спондилита, ювенильного энтеропатического артрита, ювенильный реактивного артрита, ювенильного синдрома Рейтера, синдрома SEA (серонегативная реакция, энтезопатия, суставной синдром), ювенильного дерматомиозита, ювенильного псориатического артрита, ювенильной склеродермии, ювенильной системной красной волчанки, ювенильного васкулита, олигоартикулярного ревматоидного артрита, ревматоидного артрита с системным началом, энтеропатического артрита, реактивного артрита, синдрома Рейтера, дерматомиозита, псориатического артрита, склеродермии, васкулита, миолита, полимиолита, дерматомиолита, узелкового полиартериита, гранулематоза Вегенера, артериита, ревматической полимиалгии, саркоидоза, склероза, первичного билиарного склероза, склерозирующего холангита, псориаза, бляшечного псориаза, каплевидного псориаза, инверсного псориаза, пустулезного псориаза, эритродермического псориаза, дерматита, атопического дерматита, атеросклероза, болезни Стилла, системной красной волчанки (SLE), миастении гравис, болезни Крона, язвенного колита, целиакии, риносинусита, риносинусита с полипами, эозинофильного эзофогита, эозинофильного бронхита, болезни Гийена-Барре, тиреоидита (например болезни Грейвса), болезни Аддисона, феномена Рейно, аутоиммунного гепатита, отторжения трансплантата, повреждения почек, васкулита, индуцированного гепатитом С, и спонтанной потери беременности.

320. Маскированный цитокин, содержащий:

а) первый домен продления периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и второй домен продления периода полужизни, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156;

б) маскирующий фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261; и

с) цитокин или его функциональный фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3,

при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни,

при этом цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни, и

при этом первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и

второго домена продления периода полужизни.

321. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 320, при этом маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера, и при этом цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера.

322. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 321, при этом первый линкер содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28.

323. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 321 или вариантом осуществления 322, при этом второй линкер содержит расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 264.

324. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 321-323, при этом второй линкер содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 811.

325. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 320-324, при этом маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 266.

326. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 320-325, при этом маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 267.

327. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 320-326, при этом маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 266 и 267.

328. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 1, при этом маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 585-597, 602, 610-614, 627-636, 642 и 643.

329. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 70, при этом маскированный цитокин содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 567 и 598-601.

330. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 149, при этом маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности: SEQ ID NO: 562 и 563; или SEQ ID NO: 608 и 603; или SEQ ID NO: 604 и 603; или SEQ ID NO: 605 и 603; или SEQ ID NO: 606 и 603; или SEQ ID NO: 615 и 617; или SEQ ID NO: 266 и 267; или SEQ ID NO: 618 и 620; или SEQ ID NO: 621 и 623; или SEQ ID NO: 624 и 626; или SEQ ID NO: 608 и 267; или SEQ ID NO: 663 и 664; или SEQ ID NO: 665 и 666; или SEQ ID NO: 667 и 267; или SEQ ID NO: 669 и 267; или SEQ ID NO: 670 и 671; или SEQ ID NO: 670 и 671; или SEQ ID NO: 672 и 267; или SEQ ID NO: 673 и 267; или SEQ ID NO: 674 и 267; или SEQ ID NO: 675 и 267; или SEQ ID NO: 676 и 267; или SEQ ID NO: 677 и 267; или SEQ ID NO: 678 и 267; или SEQ ID NO: 679 и 267; или SEQ ID NO: 680 и 267; или SEQ ID NO: 681 и 267; или SEQ ID NO: 682 и 267; или SEQ ID NO: 683 и 267; или SEQ ID NO: 684 и 267; или SEQ ID NO: 685 и 267; или SEQ ID NO: 686 и 267; SEQ ID NO: 687 и 267; или

SEQ ID NO: 688 и 267; или SEQ ID NO: 689 и 267; или SEQ ID NO: 690 и 267; или SEQ ID NO: 692 и 267; или SEQ ID NO: 693 и 267; или SEQ ID NO: 694 и 267; или SEQ ID NO: 695 и 267; или SEQ ID NO: 696 и 267; или SEQ ID NO: 697 и 267; или SEQ ID NO: 698 и 267; или SEQ ID NO: 699 и 267; или SEQ ID NO: 700 и 267; или SEQ ID NO: 701 и 267; или SEQ ID NO: 702 и 267; или SEQ ID NO: 703 и 267; или SEQ ID NO: 704 и 267; или SEQ ID NO: 705 и 267; или SEQ ID NO: 706 и 267; или SEQ ID NO: 707 и 267; или SEQ ID NO: 708 и 267; или SEQ ID NO: 709 и 267; или SEQ ID NO: 710 и 267; или SEQ ID NO: 711 и 267; или SEQ ID NO: 712 и 667; или SEQ ID NO: 713 и 267; или SEQ ID NO: 714 и 267; или SEQ ID NO: 716 и 699; или SEQ ID NO: 717 и 267; или SEQ ID NO: 718 и 267; или SEQ ID NO: 719 и 267; или SEQ ID NO: 720 и 267; или SEQ ID NO: 722 и 267; или SEQ ID NO: 723 и 267; или SEQ ID NO: 720 и 267; или SEQ ID NO: 728 и 267; или SEQ ID NO: 729 и 267; или SEQ ID NO: 730 и 267; или SEQ ID NO: 731 и 267; или SEQ ID NO: 732 и 267; или SEQ ID NO: 733 и 267; или SEQ ID NO: 734 и 267; или SEQ ID NO: 735 и 267; или SEQ ID NO: 736 и 267; или SEQ ID NO: 737 и 267; или SEQ ID NO: 738 и 267; или SEQ ID NO: 739 и 267; или SEQ ID NO: 740 и 267; или SEQ ID NO: 741 и 267; или SEQ ID NO: 742 и 267; или SEQ ID NO: 743 и 267; или SEQ ID NO: 744 и 267; или SEQ ID NO: 745 и 267; или SEQ ID NO: 746 и 267; или SEQ ID NO: 674 и 828; или SEQ ID NO: 674 и 829; или SEQ ID NO: 726 и 830; или SEQ ID NO: 726 и 829; или SEQ ID NO: 747 и 671; или SEQ ID NO: 715 и 267; или SEQ ID NO: 715 и 671; или SEQ ID NO: 748 и 671; или SEQ ID NO: 749 и 671; или SEQ ID NO: 750 и 671; или SEQ ID NO: 751 и 671; или SEQ ID NO: 752 и 671; или SEQ ID NO: 753 и 671; или SEQ ID NO: 754 и 671; или SEQ ID NO: 758 и 671; или SEQ ID NO: 759 и 671; или SEQ ID NO: 760 и 671; или SEQ ID NO: 761 и 671.

331. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 218, при этом маскированный цитокин содержит аминокислотные последовательности: SEQ ID NO: 755 и 616; или SEQ ID NO: 756 и 616; или SEQ ID NO: 757 и 616.

332. Маскированный цитокин, содержащий:

а) первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни;

б) первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент; и

с) цитокин или его функциональный фрагмент,

при этом первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни,

при этом второй маскирующий фрагмент связан с первым маскирующим фрагментом,

при этом цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни, и

при этом первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни.

333. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 332, при

этом:

а) первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера; и/или

б) второй маскирующий фрагмент связан с первым маскирующим фрагментом посредством второго линкера.

334. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 332 или 333, при этом цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством третьего линкера.

335. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 332-334, при этом цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент.

336. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 335, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 230, 243-251, 260, 775-792 и 813-822.

337. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 335, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотную последовательность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента, которая снижает аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении CD25 (IL-2R α).

338. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 337, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: R38A, F42A, F42K, F42E, K43A, Y45A, Y45N, Y45R, E62A, E62R, E62S и L72G.

339. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 335, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотную последовательность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента, которая повышает аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R β или IL-2R γ .

340. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 339, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: H16I, L18C, D20A, D20L, D20F, N29L, L80F, R81D, L85V, I86V и I92F.

341. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 337 или вариантом осуществления 338, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью дополнительного введения одной или нескольких аминокислотных замен,

которые повышают аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R β или IL-2R γ .

342. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 341, при этом одну или несколько аминокислотных замен, которые повышают аффинность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента в отношении IL-2R β или IL-2R γ , выбирают из группы, состоящей из H16I, L18C, D20A, D20L, D20F, N29L, L80F, R81D, L85V, I86V и I92F.

343. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 335, при этом полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких аминокислотных замен в аминокислотную последовательность полипептида IL-2 или его функционального фрагмента, которая стабилизирует полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент.

344. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 343, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью введения одной из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: C125S, C125A и C125G.

345. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 337-342, при этом аминокислотная последовательность образуется с помощью дополнительного введения одной или нескольких аминокислотных замен, которые стабилизируют полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент.

346. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 345, при этом одна или несколько замен, которые стабилизируют полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент, представляют собой C125S, C125A или C125G.

347. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 335-346, при этом первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 10, 161-165, 187-218, 221-229, 231, 261, 826 и 827, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 10, 161-165, 187-218, 221-229, 231, 261, 826 и 827, и при этом аминокислотная последовательность первого маскирующего фрагмента и аминокислотная последовательность второго маскирующего фрагмента являются различными.

348. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 335-347, при этом:

а) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или 231, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 187-218, 221-226, 261, 826 и 827; или

б) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 187-218, 221-226, 261, 826 и

827, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или 231.

349. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 332-334, при этом цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-15 или его функциональный фрагмент.

350. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 349, при этом полипептид IL-15 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167.

351. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 349 или вариантом осуществления 350, при этом

а) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229, 261, 826 и 827;

б) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229, 261, 826 и 827, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825;

с) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825: R24A, R26A, K34A, S40A, L42A и P67A, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229, 261, 826 и 827; или

д) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229, 261, 826 и 827, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825: R24A, R26A, K34A, S40A, L42A и P67A.

352. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 332-351, при этом первый домен продления периода полужизни представляет собой первое антитело или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой второе антитело или его фрагмент.

353. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 352, при этом:

а) первое антитело или его фрагмент содержит первый полипептид тяжелой цепи, и второе антитело или его фрагмент содержит второй полипептид легкой цепи; или

б) первое антитело или его фрагмент содержит первый полипептид легкой цепи, и второе антитело или его фрагмент содержит второй полипептид тяжелой цепи.

354. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 353, при этом первый полипептид тяжелой цепи или второй полипептид тяжелой цепи содержит одну или нескольких аминокислотных замен, изменяющих эффекторную функцию.

355. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 354, при этом первый полипептид тяжелой цепи или второй полипептид тяжелой цепи:

a) представляет собой изотип IgG1 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) N297A, N297G или N297Q;
- ii) L234A и L235A;
- iii) C220S, C226S, C229S и P238S;
- iv) C226S, C229S, E233P, L234V и L235A;
- v) L234F, L235E и P331S;
- vi) S267E и L328F;
- vii) D265A;
- viii) L234A, L235A и P329G;

b) представляет собой изотип IgG2 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) V234A и G237A;
- ii) H268Q, V309L, A330S и A331S; или
- iii) V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S; или

c) представляет собой изотип IgG4 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) L235A, G237A и E318A;
- ii) S228P, L234A и L235A;
- iii) H268Q, V309L, A330S и P331S; или
- iv) S228P и L235A, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat

EU.

356. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 353, при этом первый полипептид тяжелой цепи или второй полипептид тяжелой цепи содержит одну или нескольких аминокислотных замен, усиливающих эффекторную функцию.

357. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 356, при этом первый полипептид тяжелой цепи или второй полипептид тяжелой цепи представляет собой полипептид тяжелой цепи IgG1 и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- a) S298A, E333A и K334A;
- b) S239D и I332E;
- c) S239D, A330L и I332E;
- d) P247I и A339D или A339Q;
- e) D280H и K290S;
- f) D280H, K290S и либо S298D либо S298V;

- g) F243L, R292P и Y300L;
- h) F243L, R292P, Y300L и P396L;
- i) F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L;
- j) G236A, S239D и I332E;
- k) K326A и E333A;
- l) K326W и E333S;
- m) K290E, S298G и T299A;
- n) K290E, S298G, T299A и K326E;
- o) K290N, S298G и T299A;
- p) K290N, S298G, T299A и K326E;
- q) K334V;
- r) L235S, S239D и K334V;
- s) K334V и Q311M, S239D, F243V, E294L или S298T;
- t) E233L, Q311M и K334V;
- u) L234I, Q311M и K334V;
- v) K334V и S298T, A330M или A330F;
- w) K334V, Q311M и либо A330M либо A330F;
- x) K334V, S298T и либо A330M либо A330F;
- y) K334V, S239D и либо A330M либо S298T;
- z) L234Y, Y296W и K290Y, F243V или E294L;
- aa) Y296W и либо L234Y, либо K290Y;
- ab) S239D, A330S и I332E,
- ac) V264I;
- ad) F243L и V264I;
- ae) L328M;
- af) I332E;
- ag) L328M и I332E;
- ah) V264I и I332E;
- ai) S239E и I332E;
- aj) S239Q и I332E;
- ak) S239E;
- al) A330Y;
- am) I332D;
- an) L328I и I332E;
- ao) L328Q и I332E;
- ap) V264T;
- aq) V240I;
- ar) V266I;
- as) S239D;
- at) S239D и I332D;

- au) S239D и I332N;
- av) S239D и I332Q;
- aw) S239E и I332D;
- ax) S239E и I332N;
- ay) S239E и I332Q;
- az) S239N и I332D;
- ba) S239N и I332E;
- bb) S239Q и I332D;
- bc) A330Y и I332E;
- bd) V264I, A330Y и I332E;
- be) A330L и I332E;
- bf) V264I, A330L и I332E;
- bg) L234E, L234Y или L234I;
- bh) L235D, L235S, L235Y или L235I;
- bi) S239T;
- bj) V240M;
- bk) V264Y;
- bl) A330I;
- bm) N325T;
- bn) I332E и L328D, L328V, L328T или L328I;
- bo) V264I, I332E и либо S239E либо S239Q;
- bp) S239E, V264I, A330Y и I332E;
- bq) A330Y, I332E и либо S239D либо S239N;
- br) A330L, I332E и либо S239D либо S239N;
- bs) V264I, S298A и I332E;
- bt) S298A, I332E и либо S239D либо S239N;
- bu) S239D, V264I и I332E;
- bv) S239D, V264I, S298A и I332E;
- bw) S239D, V264I, A330L и I332E;
- bх) S239D, I332E и A330I;
- by) P230A;
- bz) P230A, E233D и I332E;
- ca) E272Y;
- cb) K274T, K274E, K274R, K274L или K274Y;
- cd) F275W;
- ce) N276L;
- cf) Y278T;
- cg) V302I;
- ch) E318R;
- ci) S324D, S324I или S324V;

cj) K326I или K326T;

ck) T335D, T335R или T335Y;

cl) V240I и V266I;

cm) S239D, A330Y, I332E и L234I;

cn) S239D, A330Y, I332E и L235D;

co) S239D, A330Y, I332E и V240I;

cp) S239D, A330Y, I332E и V264T; или

cq) S239D, A330Y, I332E, и либо K326E, либо K326T, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

358. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 353, при этом первый полипептид тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 168 и 169, и второй полипептид тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 168 и 169.

359. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 353, при этом первый полипептид легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157 или 170, и второй полипептид легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157 или 170.

360. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 352, при этом первое антитело или его фрагмент представляет собой первый домен кристаллизующегося фрагмента (Fc-домен) или его фрагмент, и второе антитело или его фрагмент представляет собой второй Fc-домен или его фрагмент.

361. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 360, при этом первый Fc-домен или его фрагмент и/или второй Fc-домен или его фрагмент содержит одну или нескольких аминокислотных замен, изменяющих эффекторную функцию.

362. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 361, при этом первый Fc-домен или его фрагмент и/или второй Fc-домен или его:

a) представляет собой Fc-домен IgG1 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

i) N297A, N297G или N297Q;

ii) L234A и L235A;

iii) C220S, C226S, C229S и P238S;

iv) C226S, C229S, E233P, L234V и L235A;

v) L234F, L235E и P331S;

vi) S267E и L328F;

vii) D265A;

viii) L234A, L235A и P329G;

b) представляет собой Fc-домен IgG2 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- i) V234A и G237A;
- ii) H268Q, V309L, A330S и A331S; или
- iii) V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S; или
- с) представляет собой Fc-домен IgG4 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):
 - i) L235A, G237A и E318A;
 - ii) S228P, L234A и L235A;
 - iii) H268Q, V309L, A330S и P331S; или
 - iv) S228P и L235A, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

363. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 361, при этом первый Fc-домен или его фрагмент и/или второй Fc-домен или его фрагмент содержит одну или нескольких аминокислотных замен, усиливающих эффекторную функцию.

364. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 363, при этом первый Fc-домен или его фрагмент и/или второй Fc-домен или его фрагмент представляет собой Fc-домен IgG1 или его фрагмент и содержит аминокислотную (аминокислотные) замену (замены):

- a) S298A, E333A и K334A;
- b) S239D и I332E;
- c) S239D, A330L и I332E;
- d) P247I и A339D или A339Q;
- e) D280H и K290S;
- f) D280H, K290S и либо S298D либо S298V;
- g) F243L, R292P и Y300L;
- h) F243L, R292P, Y300L и P396L;
- i) F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L;
- j) G236A, S239D и I332E;
- k) K326A и E333A;
- l) K326W и E333S;
- m) K290E, S298G и T299A;
- n) K290E, S298G, T299A и K326E;
- o) K290N, S298G и T299A;
- p) K290N, S298G, T299A и K326E;
- q) K334V;
- r) L235S, S239D и K334V;
- s) K334V и Q331M, S239D, F243V, E294L или S298T;
- t) E233L, Q311M и K334V;
- u) L234I, Q311M и K334V;
- v) K334V и S298T, A330M или A330F;

- w) K334V, Q311M и либо A330M либо A330F;
- x) K334V, S298T и либо A330M либо A330F;
- y) K334V, S239D и либо A330M либо S298T;
- z) L234Y, Y296W и K290Y, F243V или E294L;
- aa) Y296W и либо L234Y либо K290Y;
- ab) S239D, A330S и I332E,
- ac) V264I;
- ad) F243L и V264I;
- ae) L328M;
- af) I332E;
- ag) L328M и I332E;
- ah) V264I и I332E;
- ai) S239E и I332E;
- aj) S239Q и I332E;
- ak) S239E;
- al) A330Y;
- am) I332D;
- an) L328I и I332E;
- ao) L328Q и I332E;
- ap) V264T;
- aq) V240I;
- ar) V266I;
- as) S239D;
- at) S239D и I332D;
- au) S239D и I332N;
- av) S239D и I332Q;
- aw) S239E и I332D;
- ax) S239E и I332N;
- ay) S239E и I332Q;
- az) S239N и I332D;
- ba) S239N и I332E;
- bb) S239Q и I332D;
- bc) A330Y и I332E;
- bd) V264I, A330Y и I332E;
- be) A330L и I332E;
- bf) V264I, A330L и I332E;
- bg) L234E, L234Y или L234I;
- bh) L235D, L235S, L235Y или L235I;
- bi) S239T;
- bj) V240M;

- bk) V264Y;
- bl) A330I;
- bm) N325T;
- bn) I332E и L328D, L328V, L328T или L328I;
- bo) V264I, I332E и либо S239E либо S239Q;
- bp) S239E, V264I, A330Y и I332E;
- bq) A330Y, I332E и либо S239D либо S239N;
- br) A330L, I332E и либо S239D либо S239N;
- bs) V264I, S298A и I332E;
- bt) S298A, I332E и либо S239D либо S239N;
- bu) S239D, V264I и I332E;
- bv) S239D, V264I, S298A и I332E;
- bw) S239D, V264I, A330L и I332E;
- bx) S239D, I332E и A330I;
- by) P230A;
- bz) P230A, E233D и I332E;
- ca) E272Y;
- cb) K274T, K274E, K274R, K274L или K274Y;
- cd) F275W;
- ce) N276L;
- cf) Y278T;
- cg) V302I;
- ch) E318R;
- ci) S324D, S324I или S324V;
- cj) K326I или K326T;
- ck) T335D, T335R или T335Y;
- cl) V240I и V266I;
- cm) S239D, A330Y, I332E и L234I;
- cn) S239D, A330Y, I332E и L235D;
- co) S239D, A330Y, I332E и V240I;
- cp) S239D, A330Y, I332E и V264T; или
- cq) S239D, A330Y, I332E, и либо K326E, либо K326T, пронумерованные в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

365. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 360, при этом:

- a) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156;
- b) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит

p) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 793, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 622;

q) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 622, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 793;

r) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 793, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 773;

s) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 773, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 793;

t) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625;

u) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796;

v) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156;

w) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625; или

x) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796.

366. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 332-351, при этом первый домен продления периода полужизни представляет собой первый scFv или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой второй scFv или его фрагмент.

367. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 332-351, при этом первый домен продления периода полужизни представляет собой первый Fc-домен или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой второй Fc-домен или его фрагмент, и при этом первый Fc-домен или его фрагмент связан со вторым Fc-доменом или его фрагментом.

368. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 367, при этом первый Fc-домен или его фрагмент связан со вторым Fc-доменом или его фрагментом посредством четвертого линкера.

369. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления

232-351, при этом:

а) первый домен продления периода полужизни представляет собой scFv или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой антитело или его фрагмент; или

а) первый домен продления периода полужизни представляет собой антитело или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой scFv или его фрагмент.

370. Маскированный цитокин в соответствии с любым из пп. 352-365, при этом модификации, способствующие ассоциации первого и второго доменов продления периода полужизни, включают:

а) введение мутаций S354C и T366W в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций Y349C, T366S, L368A и Y407V во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

б) введение мутаций S354C и T366W во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций Y349C, T366S, L368A и Y407V в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

с) введение мутаций K392D и K409D в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E356K во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

д) введение мутаций K392D и K409D во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E356K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

е) введение мутаций S364H и F405A в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций Y349T и T394F во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

ф) введение мутаций S364H и F405A во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций Y349T и T394F в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

371. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 352-365, при этом аминокислотная последовательность первого антитела или его фрагмента и аминокислотная последовательность второго антитела или его фрагмента образуются с помощью:

а) введения мутаций S354C и T366W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций Y349C, T366S, L368A и Y407V в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

б) введения мутаций S354C и T366W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций Y349C, T366S, L368A и Y407V в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

с) введения мутаций K392D и K409D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E356K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

d) введения мутаций K392D и K409D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E356K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

e) введения мутаций S364H и F405A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций Y349T и T394F в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

f) введения мутаций S364H и F405A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций Y349T и T394F в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

372. Маскированный цитокин в соответствии с любым из пп. 352-365, при этом модификации, способствующие ассоциации первого и второго доменов продления периода полужизни, включают:

a) введение мутации Y407T в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T366Y во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

b) введение мутации Y407A в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T366W во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

c) введение мутации F405A в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T394W во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

d) введение мутации F405W в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T394S во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

e) введение мутации Y407T в первое антитело или его фрагмент и введение мутации T366Y во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

f) введение мутаций T366Y и F405A в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций T394W и Y407T во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

g) введение мутаций T366W и F405W в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций T394S и Y407A во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

h) введение мутаций F405W и Y407A в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций T366W и T394S во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

i) введение мутации T366W в первое антитело или его фрагмент и введение мутаций T366S, L368A и Y407V во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

j) введение мутации Y407T во второй антитело или его фрагмент и введение мутации T366Y в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

k) введение мутации Y407A во второе антитело или его фрагмент и введение мутации T366W в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

l) введение мутации F405A во второе антитело или его фрагмент и введение мутации T394W в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

m) введение мутации F405W во второй антитело или его фрагмент и введение мутации T394S в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

n) введение мутации Y407T во второй антитело или его фрагмент и введение мутации T366Y в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

o) введение мутаций T366Y и F405A во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций T394W и Y407T в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

p) введение мутаций T366W и F405W во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций T394S и Y407A в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

q) введение мутаций F405W и Y407A во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций T366W и T394S в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

r) введение мутации T366W во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций T366S, L368A и Y407V в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

373. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 352-365, при этом аминокислотная последовательность первого антитела или его фрагмента и аминокислотная последовательность второго антитела или его фрагмента образуются с помощью:

а) введения мутации Y407T в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации T366Y в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации

Kabat EU;

l) введения мутации F405A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации T394W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

m) введения мутации F405W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации T394S в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

n) введения мутации Y407T в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации T366Y в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

o) введения мутаций T366Y и F405A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций T394W и Y407T в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

p) введения мутаций T366W и F405W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций T394S и Y407A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

q) введения мутаций F405W и Y407A в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций T366W и T394S в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

r) введения мутации T366W в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций T366S, L368A и Y407V в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

374. Маскированный цитокин в соответствии с любым из пп. 352-365, при этом модификации, способствующие ассоциации первого и второго доменов продления периода полужизни, включают:

a) введение мутации K409E в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399K во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

b) введение мутации K409E в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399R во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

c) введение мутации K409D в первое антитело или его фрагмент и введение мутации D399K во второе антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с

введение мутаций D399K и E356K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ae) введение мутаций K409D и K392D во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E357K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

af) введение мутаций K409D и K370D во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E357K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ag) введение мутации D399K во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций K409D и K360D в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

ah) введение мутаций K409D и K439D во второе антитело или его фрагмент и введение мутаций D399K и E356K в первое антитело или его фрагмент, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

375. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 352-365, при этом аминокислотная последовательность первого антитела или его фрагмента и аминокислотная последовательность второго антитела или его фрагмента образуются с помощью:

a) введения мутации K409E в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

b) введения мутации K409E в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399R в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

c) введения мутации K409D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

d) введения мутации K409D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399R в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

e) введения мутации K392E в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399R в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

f) введения мутации K392E в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399K в аминокислотную последовательность SEQ ID

последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

aa) введения мутаций K409D и K370D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E357K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ab) введения мутаций K409D и K392D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K, E356K и E357K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ac) введения мутаций K409D и K392D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутации D399K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ad) введения мутаций K409D и K392D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E356K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ae) введения мутаций K409D и K392D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E357K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

af) введения мутаций K409D и K370D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E357K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU;

ag) введения мутации D399K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций K409D и K360D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU; или

ah) введения мутаций K409D и K439D в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, и введения мутаций D399K и E356K в аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 или 169, соответственно, пронумерованных в соответствии с системой нумерации Kabat EU.

376. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 333-375, при этом первый линкер содержит первый расщепляемый пептид; и/или при этом второй линкер содержит второй расщепляемый пептид.

377. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 333-376, при этом первый линкер содержит первый N-концевой спейсерный домен и/или первый C-концевой спейсерный домен.

378. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 377, при этом первый линкер содержит:

- a) первый N-концевой спейсерный домен, первый расщепляемый пептид и первый C-концевой спейсерный домен;
- b) первый N-концевой спейсерный домен и первый расщепляемый пептид;
- c) первый N-концевой спейсерный домен и первый C-концевой спейсерный домен;
- d) первый расщепляемый пептид и первый C-концевой спейсерный домен;
- e) первый N-концевой спейсерный домен; или
- f) первый C-концевой спейсерный домен.

379. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 333-378, при этом второй линкер содержит второй N-концевой спейсерный домен и/или второй C-концевой спейсерный домен.

380. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 379, при этом второй линкер содержит:

- a) второй N-концевой спейсерный домен, второй расщепляемый пептид и второй C-концевой спейсерный домен;
- b) второй N-концевой спейсерный домен и второй расщепляемый пептид;
- c) второй N-концевой спейсерный домен и второй C-концевой спейсерный домен;
- d) второй расщепляемый пептид и второй C-концевой спейсерный домен;
- e) второй N-концевой спейсерный домен; или
- f) второй C-концевой спейсерный домен.

381. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 376-380, при этом первый расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555; и/или при этом второй расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

382. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 377-381, при этом первый N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799, и/или при этом первый C-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

383. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 376-380, при этом первый расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242.

384. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 383, при

этом аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, содержит N-конец и C-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с N-концом или C-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

385. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 379-384, при этом второй N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799, и/или второй C-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

386. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 376-385, при этом второй расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242.

387. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 386, при этом аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, содержит N-конец и C-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с N-концом или C-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

388. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 333-387, при этом первый линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812, и/или второй линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812.

389. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 334-388, при этом третий линкер содержит третий расщепляемый пептид.

390. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 334-389, при этом третий линкер содержит третий N-концевой спейсерный домен и/или третий C-концевой спейсерный домен.

391. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 390, при этом третий линкер содержит:

а) третий N-концевой спейсерный домен, третий расщепляемый пептид и третий C-концевой спейсерный домен;

- b) третий N-концевой спейсерный домен и третий расщепляемый пептид;
- c) третий N-концевой спейсерный домен и третий C-концевой спейсерный домен;
- d) третий расщепляемый пептид и третий C-концевой спейсерный домен;
- e) третий N-концевой спейсерный домен; или
- f) третий C-концевой спейсерный домен.

392. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 389-391, при этом третий расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555; и/или при этом третий расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

393. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 390-392, при этом третий N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799, и/или третий C-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

394. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 389-393, при этом третий расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242.

395. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 394, при этом аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, содержит N-конец и C-конец, и аминокислотная последовательность, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 236-242, связана с N-концом или C-концом аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

396. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 334-395, при этом третий линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812, и/или третий линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812.

397. Маскированный цитокин в соответствии с вариантами осуществления 368-396, при этом четвертый линкер содержит четвертый N-концевой спейсерный домен, и/или четвертый C-концевой спейсерный домен.

398. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 397, при этом четвертый N-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799, и/или четвертый C-концевой спейсерный домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20-95, 235, 268, 269, 303-305, 323-338, 340, 341, 727, 794 и 799.

399. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 376-398, при этом первый расщепляемый пептид, второй расщепляемый пептид и/или третий расщепляемый пептид являются субстратом для протеазы, которая локализована в области или ткани, экспрессирующей цитокиновый рецептор.

400. Маскированный цитокиновый рецептор в соответствии с вариантом осуществления 399, при этом цитокиновый рецептор представляет собой рецептор цитокина IL-2 или рецептор цитокина IL-15.

401. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 376-400, при этом первый расщепляемый пептид, второй расщепляемый пептид и/или третий расщепляемый пептид расщепляется с помощью одного или нескольких ферментов, выбранных из группы, состоящей из: ABHD12, ADAM12, ABHD12B, ABHD13, ABHD17A, ADAM19, ADAM20, ADAM21, ADAM28, ADAM30, ADAM33, ADAM8, ABHD17A, ADAMDEC1, ADAMTS1, ADAMTS10, ADAMTS12, ADAMTS13, ADAMTS14, ADAMTS15, ADAMTS16, ADAMTS17, ADAMTS18, ADAMTS19, ADAMTS2, ADAMTS20, ADAMTS3, ADAMTS4, ABHD17B, ADAMTS5, ADAMTS6, ADAMTS7, ADAMTS8, ADAMTS9, ADAMTSL1, ADAMTSL2, ADAMTSL3, ABHD17C, ADAMTSL5, ASTL, BMP1, CELA1, CELA2A, CELA2B, CELA3A, CELA3B, ADAM10, ADAM15, ADAM17, ADAM9, ADAMTS4, CTSE, CTSF, ADAMTSL4, CMA1, CTRB1, CTRC, CTSO, CTRI, CTSA, CTSW, CTSB, CTSC, CTSD, ESP1, CTSG, CTSB, GZMA, GZMB, GZMH, CTSK, GZMM, CTSL, CTSS, CTSV, CTSZ, HTRA4, KLK10, KLK11, KLK13, KLK14, KLK2, KLK4, DPP4, KLK6, KLK7, KLKB1, ECE1, ECE2, ECEL1, MASP2, MEP1A, MEP1B, ELANE, FAP, GZMA, MMP11, GZMK, HGFAC, HPN, HTRA1, MMP11, MMP16, MMP17, MMP19, HTRA2, MMP20, MMP21, HTRA3, HTRA4, KEL, MMP23B, MMP24, MMP25, MMP26, MMP27, MMP28, KLK5, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, LGMN, LNPEP, MASP1, PAPP, PAPP2, PCSK1, NAPSA, PCSK5, PCSK6, MME, MMP1, MMP10, PLAT, PLAU, PLG, PRSS1, PRSS12, PRSS2, PRSS21, PRSS3, PRSS33, PRSS4, PRSS55, PRSS57, MMP12, PRSS8, PRSS9, PRTN3, MMP13, MMP14, ST14, TMPRSS10, TMPRSS11A, TMPRSS11D, TMPRSS11E, TMPRSS11F, TMPRSS12, TMPRSS13, MMP15, TMPRSS15, MMP2, TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4, TMPRSS5, TMPRSS6, TMPRSS7, TMPRSS9, NRDC, OVCH1, PAMR1, PCSK3, PHEX, TINAG, TPSAB1, TPSD1 и TPSG1.

402. Маскированный цитокин в соответствии с любым из вариантов осуществления 332-401, при этом первый домен продления периода полужизни и/или второй домен продления периода полужизни конъюгирован с агентом.

403. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 402, при

этом агент представляет собой ингибитор полимеризации тубулина, агент, повреждающий ДНК, или ингибитор синтеза ДНК.

404. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 403, при этом агент представляет собой майтансиноид, ауристатин, димер пирролобензодиазепина (PBD), калихеамицин, дуокармицин, димер индолинобензодиазепина или производное экзатекана Dxd.

405. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 402, при этом агент представляет собой иммуностимулятор.

406. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 405, при этом иммуностимулятор представляет собой стимулятор агониста генов интерферона (STING) или агонист толл-подобных рецепторов (TLR).

407. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 406, при этом агонист STING представляет собой циклический динуклеотид (CDN).

408. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 407, при этом CDN выбирают из группы, состоящей из cGAMP, с-ди-AMP, с-ди-GMP, сAIMP, с-ди-IMP, 4-(2-хлор-6-фторбензил)-N-(фуран-2-илметил)-3-оксо-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-карбоксамид.

409. Маскированный цитокин в соответствии с вариантом осуществления 406, при этом агонист TLR представляет собой агонист TLR, выбранный из группы, состоящей из TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 и TLR10.

ПРИМЕРЫ

[589] Настоящее изобретение будет более полно понято при обращении к следующим примерам. Однако их не следует рассматривать как ограничивающие объем настоящего изобретения. Следует понимать, что примеры и варианты осуществления, описанные в настоящем 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 объем настоящей заявки и в объем прилагаемой формулы изобретения.

[590] Хотя в некоторых примерах описывается конструирование, получение и/или исследование «маскированных» версий полипептидной конструкции IL-2 или полипептидной конструкции IL-15, в некоторых примерах также используются исходные «немаскированные» версии полипептидной конструкции IL-2 или полипептидной конструкции IL-15, например, для сравнения, или другие конструкции, которые включают один или несколько компонентов, описанных в настоящем документе, которые исследуются в качестве контролей для сравнения. Соответственно, описание, например, исследования, проведенного на конструкциях маскированного полипептида IL-2, не обязательно означает, что немаскированные версии конструкции также не исследовали.

Пример 1: Конструирование маскированных полипептидов IL-2 и маскированных полипептидов IL-15

[591] Конструкции маскированного полипептида IL-2 и конструкции

маскированного полипептида П-15 получают в соответствии с идеями настоящего документа. В последующих примерах некоторые эксперименты включают использование маскированных полипептидных конструкций П-2 и П-15 в мономерной форме, а некоторые эксперименты включают использование маскированных полипептидных конструкций П-2 и П-15 в димерной форме, такой как димер, образованный дисульфидными связями, связывающими две копии одной и той же маскированной полипептидной конструкции (гомодимер), или гетеродимер, образованный двумя разными полипептидами (*см., например, Табл. 8-11*).

[592] Получают маскированные полипептидные конструкции П-2, которые содержат полипептид П-2 или его функциональный фрагмент, маскирующий фрагмент и домен продления периода полужизни, такой как альбумин, антитело или его фрагмент (например Fc-область, тяжелую цепь и/или легкую цепь), альбуминсвязывающий пептид, IgG-связывающий пептид или полиаминокислотную последовательность. Также получают некоторые полипептидные конструкции П-2, которые содержат полипептид П-2 или его функциональный фрагмент, связанный с доменом продления периода полужизни, без включения также маскирующего фрагмента. Некоторые из конструкций также содержат линкер, который содержит расщепляемый пептид и связывает маскирующий фрагмент с полипептидом П-2 или его функциональным фрагментом, в результате чего получается конструкция активируемого маскированного полипептида П-2. Некоторые из конструкций также содержат линкер, который связывает полипептид П-2 или его функциональный фрагмент с доменом продления периода полужизни. Некоторые из конструкций также содержат линкер, который связывает полипептид П-2 или его функциональный фрагмент с маскирующим фрагментом. Конструкции маскированного полипептида П-2, которые не содержат расщепляемый пептид в линкере, который связывает полипептид П-2 или его функциональный фрагмент с маскирующим фрагментом, также называют неактивируемыми конструкциями маскированного полипептида П-2 или неактивируемыми конструкциями полипептида П-2, поскольку они не содержат расщепляемый пептид. Структура и состав иллюстративных полипептидных конструкций П-2 представлены в Табл. 4.

Таблица 4

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (ММ)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
2001	SEQ ID NO: 1	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	
2002	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-C	
2003	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 154	C-L1-MM-H	
2004	SEQ ID NO: 3	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	
2005	SEQ ID NO: 4	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	
2006	SEQ ID NO: 5	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	
2014	SEQ ID NO: 1	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2017	SEQ ID NO: 3	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2018	SEQ ID NO: 4	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2019	SEQ ID NO: 5	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2024	SEQ ID NO: 6	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	
2025	SEQ ID NO: 7	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	
2026	SEQ ID NO: 8	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	
2027	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	
2028	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	
2029	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 32	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	
2030	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	
2031	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	
2032	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	
2033	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	
2034	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 32	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
2035	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	
2036	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 26	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 154	C-L1-MM-H	
2037	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 154	C-L1-MM-H	
2038	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 154	C-L1-MM-H	
2039	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 154	C-L1-MM-H	
2040	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 154	C-L1-MM-H	
2041	SEQ ID NO: 1	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2042	SEQ ID NO: 1	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2043	SEQ ID NO: 1	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2044	SEQ ID NO: 1	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2045	SEQ ID NO: 3	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2046	SEQ ID NO: 3	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2047	SEQ ID NO: 3	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2048	SEQ ID NO: 3	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2049	SEQ ID NO: 4	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2050	SEQ ID NO: 4	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2051	SEQ ID NO: 4	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2052	SEQ ID NO: 4	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2053	SEQ ID NO: 5	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2054	SEQ ID NO: 5	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2055	SEQ ID NO: 5	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2056	SEQ ID NO: 5	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (ММ)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
2057	SEQ ID NO: 6	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2058	SEQ ID NO: 6	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2059	SEQ ID NO: 6	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2060	SEQ ID NO: 6	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2061	SEQ ID NO: 6	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2062	SEQ ID NO: 7	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2063	SEQ ID NO: 7	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2064	SEQ ID NO: 7	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2065	SEQ ID NO: 7	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2066	SEQ ID NO: 7	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2067	SEQ ID NO: 8	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2068	SEQ ID NO: 8	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2069	SEQ ID NO: 8	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2070	SEQ ID NO: 8	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2071	SEQ ID NO: 8	-	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	H-C-L2-MM	
2109	SEQ ID NO: 2	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	
AK032	SEQ ID NO: 1	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 556
AK033	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	SEQ ID NO: 557
AK034	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 154	C-L1-MM-H	SEQ ID NO: 558
AK035	SEQ ID NO: 3	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 559
AK036	SEQ ID NO: 4	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 560
AK037	SEQ ID NO: 5	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 561

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен пролонгации периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
AK040	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 566
AK042	SEQ ID NO: 6	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 568
AK043	SEQ ID NO: 7	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 569
AK044	SEQ ID NO: 8	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 570
AK045	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	SEQ ID NO: 571
AK046	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	SEQ ID NO: 572
AK047	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 32	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	SEQ ID NO: 573
AK048	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	SEQ ID NO: 574
AK049	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	SEQ ID NO: 575
AK050	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	SEQ ID NO: 576
AK051	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	SEQ ID NO: 577
AK052	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 32	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	SEQ ID NO: 578
AK053	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C	SEQ ID NO: 579
AK054	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 26	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 154	C-L1-MM-H	SEQ ID NO: 580
AK055	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 154	C-L1-MM-H	SEQ ID NO: 581
AK056	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 154	C-L1-MM-H	SEQ ID NO: 582
AK057	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 26	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 154	C-L1-MM-H	SEQ ID NO: 583
AK058	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 154	C-L1-MM-H	SEQ ID NO: 584
AK059	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 585
AK060	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 586
AK061	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 587
AK062	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 588

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления перпода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
AK063	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 589
AK064	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 590
AK065	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 591
AK066	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 592
AK067	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 593
AK068	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 594
AK069	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 595
AK070	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 596
AK071	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 597
AK112	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 602
AK080	SEQ ID NO: 2	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 607
AK082	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 609
AK083	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 226	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 610
AK084	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 226	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 611
AK085	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 226	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 612
AK086	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 226	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 613
AK087	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 226	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 614
AK096	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 762	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1	SEQ ID NO: 627
AK097	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 763	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1	SEQ ID NO: 628
AK098	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 764	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1	SEQ ID NO: 629
AK099	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 765	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1	SEQ ID NO: 630
AK100	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 766	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1	SEQ ID NO: 631

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
AK101	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 767	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1	SEQ ID NO: 632
AK102	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 768	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1	SEQ ID NO: 633
AK103	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 769	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1	SEQ ID NO: 634
AK104	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 770	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1	SEQ ID NO: 635
AK105	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 771	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1	SEQ ID NO: 636
AK106	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM	SEQ ID NO: 637
AK112	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 602
AK113	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 642
AK114	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 154	H-C-L1-MM	SEQ ID NO: 643
AK115	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 644
AK116	SEQ ID NO: 775	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 645
AK117	SEQ ID NO: 776	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 646
AK118	SEQ ID NO: 777	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 647
AK119	SEQ ID NO: 778	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 648
AK120	SEQ ID NO: 779	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 649
AK121	SEQ ID NO: 780	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 650
AK122	SEQ ID NO: 781	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 651
AK123	SEQ ID NO: 782	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 652
AK124	SEQ ID NO: 783	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 653
AK125	SEQ ID NO: 784	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 654
AK126	SEQ ID NO: 785	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 655
AK127	SEQ ID NO: 786	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 656

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (ММ)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
AK128	SEQ ID NO: 787	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 657
AK129	SEQ ID NO: 788	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 658
AK130	SEQ ID NO: 789	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 659
AK131	SEQ ID NO: 790	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 660
AK132	SEQ ID NO: 791	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 661
AK133	SEQ ID NO: 792	-	-	-	SEQ ID NO: 154	H-C	SEQ ID NO: 662

[593] Получают маскированные полипептидные конструкции П-15, которые содержат полипептид П-15 или его функциональный фрагмент, маскирующий фрагмент и домен продления периода полужизни, такой как альбумин, антитело или его фрагмент (например Fc-область, тяжелую цепь и/или легкую цепь), альбуминсвязывающий пептид, IgG-связывающий пептид или полиаминокислотную последовательность. Также получают некоторые полипептидные конструкции П-15, которые содержат полипептид П-15 или его функциональный фрагмент, связанный с доменом продления периода полужизни, без включения также маскирующего фрагмента. Некоторые из конструкций также содержат линкер, который содержит расщепляемый пептид и связывает маскирующий фрагмент с полипептидом П-15 или его функциональным фрагментом, в результате чего получается конструкция активируемого маскированного полипептида П-15. Некоторые из конструкций также содержат линкер, который связывает полипептид П-15 или его функциональный фрагмент с доменом продления периода полужизни. Некоторые из конструкций также содержат линкер, который связывает полипептид П-15 или его функциональный фрагмент с маскирующим фрагментом. Конструкции маскированного полипептида П-15, которые не содержат расщепляемый пептид в линкере, который связывает полипептид П-15 или его функциональный фрагмент с маскирующим фрагментом, также называют неактивируемыми конструкциями маскированного полипептида П-15 или неактивируемыми конструкциями полипептида П-15, поскольку они не содержат расщепляемый пептид. Также получают некоторые полипептидные конструкции П-15, которые содержат маскирующий фрагмент, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261. Структура и состав иллюстративных полипептидных конструкций П-15 представлены в Табл. 5.

Таблица 5

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N-к C-концу)
3000	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C
3001	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 161	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C
3002	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 162	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C
3003	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 163	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C
3004	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 164	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C
3005	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 165	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C
3006	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 219	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C
3007	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 220	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C
3008	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C
3009	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 222	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM-L2-C
3010	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 223	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	C-L2-MM-L1-H
3011	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 224	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	C-L2-MM-L1-H
3012	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 225	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	C-L2-MM-L1-H
3013	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 226	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	C-L2-MM-L1-H
3014	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 227	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	C-L2-MM-L1-H
3015	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 228	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	C-L2-MM-L1-H
3016	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 229	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	C-L2-MM-L1-H
3017	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 232	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	C-L2-MM-L1-H
3018	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 233	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	C-L2-MM-L1-H
3019	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 234	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	C-L2-MM-L1-H

[594] Также получают маскированные полипептидные конструкции ПЛ-2, которые содержат полипептид ПЛ-2 или его функциональный фрагмент, первый маскирующий фрагмент, второй маскирующий фрагмент и домен продления периода полужизни, такой как альбумин, антитело или его фрагмент (например Fc-область, тяжелую цепь и/или легкую цепь), альбуминсвязывающий пептид, IgG-связывающий пептид или полиаминокислотную последовательность. Некоторые из конструкций также содержат линкер, который связывает первый маскирующий фрагмент с полипептидом ПЛ-2 или его функциональным фрагментом. Некоторые из конструкций также содержат линкер, который связывает второй маскирующий фрагмент с полипептидом ПЛ-2 или его функциональным фрагментом. Некоторые из конструкций содержат расщепляемый пептид в линкере, связывающем первый маскирующий фрагмент с полипептидом ПЛ-2 или его функциональным фрагментом, и/или линкер, связывающий второй маскирующий фрагмент с полипептидом ПЛ-2 или его функциональным фрагментом, что приводит к образованию активируемой маскированной полипептидной конструкции ПЛ-2. Некоторые из конструкций также содержат линкер, связывающий второй маскирующий фрагмент с доменом продления периода полужизни. Конструкции маскированного полипептида ПЛ-2, которые не содержат расщепляемый пептид ни в одно из линкеров, которые связывают полипептид ПЛ-2 или его функциональный фрагмент с первым маскирующим фрагментом или вторым маскирующим фрагментом, также называют неактивируемыми конструкциями маскированного полипептида ПЛ-2 или неактивируемыми конструкциями полипептида ПЛ-2, поскольку они не содержат расщепляемый пептид. Структура и состав иллюстративных полипептидных конструкций ПЛ-2 представлены в Табл. 6.

Таблица 6

№ конструкции	Маскирующий фрагмент (MM1)	Линкер (L1)	Цитокин или его функциональный фрагмент (C)	Линкер (L2)	Маскирующий фрагмент (MM2)	Линкер (L3)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
2015	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
2072	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
2073	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
2074	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
2075	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
2076	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
2077	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
2078	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
2079	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
AK041	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	SEQ ID NO: 567
AK072	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	SEQ ID NO: 598
AK073	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	SEQ ID NO: 599
AK074	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	SEQ ID NO: 600
AK075	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	SEQ ID NO: 601

[595] Также получают маскированные полипептидные конструкции П-15, которые содержат полипептид П-15 или его функциональный фрагмент, первый маскирующий фрагмент, второй маскирующий фрагмент и домен продления периода полужизни, такой как альбумин, антитело или его фрагмент (например Fc-область, тяжелую цепь и/или легкую цепь), альбуминсвязывающий пептид, IgG-связывающий пептид или полиаминокислотную последовательность. Некоторые из конструкций также содержат линкер, который связывает первый маскирующий фрагмент с полипептидом П-15 или его функциональным фрагментом. Некоторые из конструкций также содержат линкер, который связывает второй маскирующий фрагмент с полипептидом П-15 или его функциональным фрагментом. Некоторые из конструкций содержат расщепляемый пептид в линкере, связывающем первый маскирующий фрагмент с полипептидом П-15 или его функциональным фрагментом, и/или линкер, связывающий второй маскирующий фрагмент с полипептидом П-15 или его функциональным фрагментом, что приводит к образованию активируемой маскированной полипептидной конструкции П-15. Некоторые из конструкций также содержат линкер, связывающий второй маскирующий фрагмент с доменом продления периода полужизни. Некоторые из конструкций также содержат второй домен продления периода полужизни, который ассоциируется с первым доменом продления периода полужизни. Конструкции маскированного полипептида П-15, которые не содержат расщепляемый пептид в любом из линкеров, которые связывают полипептид П-15 или его функциональный фрагмент с первым маскирующим фрагментом или вторым маскирующим фрагментом, также называют неактивируемыми конструкциями маскированного полипептида П-15 или неактивируемыми конструкциями полипептида П-2, поскольку они не содержат расщепляемый пептид. Структура и состав иллюстративных полипептидных конструкций П-15 представлены в Табл. 7.

Таблица 7

№ конструкции	Маскирующий фрагмент (MM1)	Линкер (L1)	Цитокин или его функциональный фрагмент (C)	Линкер (L2)	Маскирующий фрагмент (MM2)	Линкер (L3)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
3020	SEQ ID NO: 232	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
3021	SEQ ID NO: 232	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 161	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
3022	SEQ ID NO: 232	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 162	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
3023	SEQ ID NO: 232	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 163	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
3024	SEQ ID NO: 233	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 164	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
3025	SEQ ID NO: 233	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 165	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
3026	SEQ ID NO: 233	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 219	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
3027	SEQ ID NO: 233	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 220	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
3028	SEQ ID NO: 234	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
3029	SEQ ID NO: 234	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 222	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 154	H-L1-MM1-L2-C-L3-MM2	
3030	SEQ ID NO: 234	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 227	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 154	MM2-L3-C-L2-MM1-L1-H	
3031	SEQ ID NO: 234	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 228	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 154	MM2-L3-C-L2-MM1-L1-H	
3032	SEQ ID NO: 234	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 229	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 154	MM2-L3-C-L2-MM1-L1-H	
AK401	SEQ ID NO: 261	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 318	SEQ ID NO: 825	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM1-L2-MM2-L3-C	SEQ ID NO: 755
	-	-	-	-	-	-	SEQ ID NO: 616	H	SEQ ID NO: 616
AK403	SEQ ID NO: 261	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 318	SEQ ID NO: 825	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM1-L2-MM2-L3-C	SEQ ID NO: 756
	-	-	-	-	-	-	SEQ ID NO: 616	H	SEQ ID NO: 616
AK402	SEQ ID NO: 261	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 319	SEQ ID NO: 825	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM1-L2-MM2-L3-C	SEQ ID NO: 757
	-	-	-	-	-	-	SEQ ID NO: 616	H	SEQ ID NO: 616

[596] Также получают маскированные полипептидные конструкции П-2, которые содержат полипептид П-2 или его функциональный фрагмент, маскирующий фрагмент, первый домен продления периода полужизни, второй домен продления периода полужизни, такой как альбумин, антитело или его фрагмент (например Fc-область, тяжелую цепь и/или легкую цепь), альбуминсвязывающий пептид, IgG-связывающий пептид или полиаминокислотную последовательность. Маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни, полипептид П-2 или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни, и первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни. В одном иллюстративном варианте осуществления маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни и содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 267, и полипептид П-2 или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни и содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 266, и первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни. В одном иллюстративном варианте немаскированной конструкции полипептида П-2 вариант осуществления включает полипептид П-2 или его функциональный фрагмент, связанный с первым доменом продления периода полужизни, и содержит второй домен продления периода полужизни, при этом полипептид П-2 или его функциональный фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни и содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 266, и второй домен продления периода полужизни содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 265. Некоторые из конструкций также содержат линкер, который связывает маскирующий фрагмент с первым доменом продления периода полужизни, и/или линкер, который связывает полипептид П-2 или его функциональный фрагмент со вторым доменом продления периода полужизни. Первый и второй домены продления периода полужизни некоторых конструкций также связаны. В некоторых конструкциях первый и второй домены с продленным периодом полужизни некоторых конструкций связаны посредством линкера. Некоторые из конструкций содержат расщепляемый пептид в линкере, связывающем маскирующий фрагмент с первым доменом продления периода полужизни, и/или линкер, связывающий полипептид П-2 или его функциональный фрагмент со вторым доменом продления периода полужизни, что приводит к образованию активируемой маскированной полипептидной конструкции П-2. Конструкции маскированного полипептида П-2, которые не содержат расщепляемый пептид ни в линкере, который связывает полипептид П-2 или его функциональный фрагмент со вторым доменом продления периода полужизни, ни в линкере, который связывает маскирующий фрагмент с первым доменом продления периода полужизни, также называют неактивируемыми маскированными полипептидными конструкциями П-2 или

неактивируемыми полипептидными конструкциями П-2, поскольку они не содержат расщепляемый пептид. Структура и состав иллюстративных полипептидных конструкций П-2 представлены в Табл. 8.

Таблица 8

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
2007/2008	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 22	-	-	SEQ ID NO: 157	C-L1-H	
	-	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 158	MM-L1-H	
2009/2010	-	SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 158	MM-L1-H	
	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 25	-	-	SEQ ID NO: 157	C-L1-H	
2080/2081	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2082	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 12	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2083	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 13	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2084	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 14	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2085	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2086	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 12	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2087	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 13	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2088	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 14	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2089	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2090	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 12	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2091	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 13	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2092	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 14	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2093	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2094	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 12	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2095	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 13	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2096	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 14	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2097	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2098	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 12	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2099	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 13	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2100	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 14	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2101	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2102	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 12	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2103	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 13	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2104	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 14	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2105	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2106	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 12	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2107	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 13	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
2080/2108	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 14	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
5001/5002	SEQ ID NO: 260	SEQ ID NO: 262	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 266
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 265	H	SEQ ID NO: 265
5001/5003	SEQ ID NO: 260	SEQ ID NO: 262	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 266
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK038	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 22	-	-	SEQ ID NO: 157	C-L1-H	SEQ ID NO: 562

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
	-	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 158	MM-L1-H	SEQ ID NO: 563
AK039	-	SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 9	-	SEQ ID NO: 158	MM-L1-H	SEQ ID NO: 564
	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 25	-	-	SEQ ID NO: 157	C-L1-H	SEQ ID NO: 565
AK076	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 608
	-	SEQ ID NO: 795	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 603
AK077	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 12	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 604
	-	SEQ ID NO: 795	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 603
AK078	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 13	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 605
	-	SEQ ID NO: 795	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 603
AK079	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 14	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 606
	-	SEQ ID NO: 795	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 603
AK081	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 608
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 265	H	SEQ ID NO: 265
AK088	SEQ ID NO: 1	-	-	-	SEQ ID NO: 155	H-C	SEQ ID NO: 615
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 616	H	SEQ ID NO: 616
AK089	SEQ ID NO: 1	-	-	-	SEQ ID NO: 155	H-C	SEQ ID NO: 615
	-	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 617
AK090	SEQ ID NO: 1	-	-	-	SEQ ID NO: 721	H-C	SEQ ID NO: 618
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 619	H	SEQ ID NO: 619
AK091	SEQ ID NO: 1	-	-	-	SEQ ID NO: 721	H-C	SEQ ID NO: 618
	-	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 772	H-L1-MM	SEQ ID NO: 620
AK092	SEQ ID NO: 1	-	-	-	SEQ ID NO: 793	H-C	SEQ ID NO: 621

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 622	H	SEQ ID NO: 622
AK093	SEQ ID NO: 1	-	-	-	SEQ ID NO: 793	H-C	SEQ ID NO: 621
	-	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 773	H-L1-MM	SEQ ID NO: 623
AK094	SEQ ID NO: 1	-	-	-	SEQ ID NO: 796	H-C	SEQ ID NO: 624
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 625	H	SEQ ID NO: 625
AK095	SEQ ID NO: 1	-	-	-	SEQ ID NO: 796	H-C	SEQ ID NO: 624
	-	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 774	H-L1-MM	SEQ ID NO: 626
AK107	-	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 638
	SEQ ID NO: 1	-	-	-	SEQ ID NO: 155	H-C	SEQ ID NO: 615
AK108	-	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 772	H-L1-MM	SEQ ID NO: 639
	SEQ ID NO: 1	-	-	-	SEQ ID NO: 721	H-C	SEQ ID NO: 618
AK109	-	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 773	H-L1-MM	SEQ ID NO: 640
	SEQ ID NO: 1	-	-	-	SEQ ID NO: 793	H-C	SEQ ID NO: 621
AK110	-	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 774	H-L1-MM	SEQ ID NO: 641
	SEQ ID NO: 1	-	-	-	SEQ ID NO: 796	H-C	SEQ ID NO: 624
AK111	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 608
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK163	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 793	H-L1-C	SEQ ID NO: 663
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 622	H	SEQ ID NO: 622
AK164	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 793	H-L1-C	SEQ ID NO: 663
	-	SEQ ID NO: 795	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 773	H-L1-MM	SEQ ID NO: 664
AK165	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 796	H-L1-C	SEQ ID NO: 665

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (ММ)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 625	H	SEQ ID NO: 625
AK166	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 796	H-L1-C	SEQ ID NO: 665
	-	SEQ ID NO: 795	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 774	H-L1-MM	SEQ ID NO: 666
AK167	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 667
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 265	H	SEQ ID NO: 265
AK168	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 667
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK169	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 669
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 265	H	SEQ ID NO: 265
AK170	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 669
AK171	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-C	SEQ ID NO: 670
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 616	H	SEQ ID NO: 616
AK172	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-C	SEQ ID NO: 670
	-	SEQ ID NO: 795	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 671
AK184	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 800	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 672
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK185	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 185	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 673
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK186	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 674
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK187	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 803	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 675

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK188	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 804	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 676
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK189	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 805	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 677
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK190	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 806	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 678
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK191	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 807	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 679
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK192	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 805	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 680
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK193	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 806	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 681
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK194	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 808	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 682
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK195	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 809	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 683
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK196	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 810	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 684
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK197	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 808	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 685
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK198	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 809	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 686

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK199	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 810	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 687
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK200	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 811	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 688
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK201	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 812	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 689
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK202	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 263	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 690
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK203	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 811	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 266
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK204	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 812	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 692
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK205	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 263	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 693
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK206	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 800	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 694
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK207	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 801	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 695
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK208	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 804	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 696
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK209	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 697

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK210	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 807	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 698
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK211	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 339	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 699
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK212	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 339	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 700
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK215	SEQ ID NO: 815	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 701
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK216	SEQ ID NO: 816	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 702
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK217	SEQ ID NO: 817	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 703
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK218	SEQ ID NO: 818	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 704
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK219	SEQ ID NO: 819	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 705
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK220	SEQ ID NO: 820	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 706
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK221	SEQ ID NO: 821	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 707
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK222	SEQ ID NO: 822	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 708

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK223	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 709
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK224	SEQ ID NO: 814	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 710
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK225	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 803	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 711
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK228	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 339	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 700
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 265	H	SEQ ID NO: 265
AK231	-	-	-	-	SEQ ID NO: 156	H	SEQ ID NO: 156
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK232	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 667
	-	SEQ ID NO: 795	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 712
AK233	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 691	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 713
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK234	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 691	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 714
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK235	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 697
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 265	H	SEQ ID NO: 265
AK252	-	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 716
	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 339	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 699
AK253	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 339	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 699

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 265	H	SEQ ID NO: 265
AK304	SEQ ID NO: 815	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 717
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 265	H	SEQ ID NO: 265
AK305	SEQ ID NO: 815	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 717
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK306	SEQ ID NO: 816	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 718
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 265	H	SEQ ID NO: 265
AK307	SEQ ID NO: 816	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 718
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK308	SEQ ID NO: 818	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 719
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 265	H	SEQ ID NO: 265
AK309	SEQ ID NO: 818	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 719
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK310	SEQ ID NO: 819	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 720
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 265	H	SEQ ID NO: 265
AK311	SEQ ID NO: 819	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 720
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK312	SEQ ID NO: 820	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 722
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 265	H	SEQ ID NO: 265
AK313	SEQ ID NO: 820	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 722
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK314	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 723

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (ММ)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (Н)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 265	H	SEQ ID NO: 265
AK315	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 723
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK316	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 674
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK325	SEQ ID NO: 815	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 701
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK326	SEQ ID NO: 816	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 702
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK327	SEQ ID NO: 818	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 704
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK328	SEQ ID NO: 819	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 705
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK329	SEQ ID NO: 820	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 706
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK330	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 709
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK349	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 807	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 728
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK350	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 797	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 729
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK351	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 798	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 730

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK352	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 724			SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 731
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK353	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 725			SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 732
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK354	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 536	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 733
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK355	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 537	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 734
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK357	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 502	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 735
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK358	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 503	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 736
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK359	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 492	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 737
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK360	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 493	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 738
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK361	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 416	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 739
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK362	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 417	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 740
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK363	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 418	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 741

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK364	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 419	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 742
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK365	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 350	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 743
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK366	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 351	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 744
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK367	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 352	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 745
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK368	SEQ ID NO: 813	SEQ ID NO: 353	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 746
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK317	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 674
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 826	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 828
AK324	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 674
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 827	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 829
AK341	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 726
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 826	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 830
AK342	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 802	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 726
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 827	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 829

[597] Также получают маскированные полипептидные конструкции П-15, которые содержат полипептид П-15 или его функциональный фрагмент, маскирующий фрагмент, первый домен продления периода полужизни, второй домен продления периода полужизни, такой как альбумин, антитело или его фрагмент (например Fc-область, тяжелую цепь и/или легкую цепь), альбуминсвязывающий пептид, IgG-связывающий пептид или полиаминокислотную последовательность. Маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни, полипептид П-15 или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни, и первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни. Некоторые из конструкций также содержат линкер, который связывает маскирующий фрагмент с первым доменом продления периода полужизни, и/или линкер, который связывает полипептид П-15 или его функциональный фрагмент со вторым доменом продления периода полужизни. Первый и второй домены продления периода полужизни некоторых конструкций также связаны. В некоторых конструкциях первый и второй домены с продленным периодом полужизни некоторых конструкций связаны посредством линкера. Некоторые из конструкций содержат расщепляемый пептид в линкере, связывающем маскирующий фрагмент с первым доменом продления периода полужизни, и/или линкер, связывающий полипептид П-15 или его функциональный фрагмент со вторым доменом продления периода полужизни, что приводит к образованию активируемой маскированной полипептидной конструкции П-15. Конструкции маскированного полипептида П-15, которые не содержат расщепляемый пептид ни в линкере, который связывает полипептид П-15 или его функциональный фрагмент со вторым доменом продления периода полужизни, ни в линкере, который связывает маскирующий фрагмент с первым доменом продления периода полужизни, также называют неактивируемыми маскированными полипептидными конструкциями П-15 или неактивируемыми полипептидными конструкциями П-15, поскольку они не содержат расщепляемый пептид. Структура и состав иллюстративных полипептидных конструкций П-15 представлены в Табл. 9.

Таблица 9

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
3033	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
3034	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	MM-L1-H	
	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	C-L1-H	
3035	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	MM-L1-H	
	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	C-L1-H	
3036	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 232	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
3037	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 233	-	SEQ ID NO: 155	MM-L1-H	
	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	C-L1-H	
3038		SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 233	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	
	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 11	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	
AK243	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 668	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 715
	-	-	-	-	SEQ ID NO: 265	H	SEQ ID NO: 265
AK247	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 845			SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 747
	-	SEQ ID NO: 799	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 671
AK248	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 668	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 715
	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM	SEQ ID NO: 267
AK248b	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 668	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 715
	-	SEQ ID NO: 799	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 671
AK249	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 355			SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 748

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N- к C-концу)	Аминокислотная последовательность
	-	SEQ ID NO: 799	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 671
AK250	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 354	SEQ ID NO: 823	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM	SEQ ID NO: 749
	-	SEQ ID NO: 799	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 671
AK251	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 354	SEQ ID NO: 824	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM	SEQ ID NO: 750
	-	SEQ ID NO: 799	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 671
AK418	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 348	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 751
	-	SEQ ID NO: 799	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 671
AK419	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 668	SEQ ID NO: 823	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM	SEQ ID NO: 752
	-	SEQ ID NO: 799	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 671
AK420	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 668	SEQ ID NO: 824	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM	SEQ ID NO: 753
	-	SEQ ID NO: 799	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 671
AK421	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 349	-	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-C	SEQ ID NO: 754
	-	SEQ ID NO: 799	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 671
AK399	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 320	SEQ ID NO: 823	SEQ ID NO: 321	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM	SEQ ID NO: 758
	-	SEQ ID NO: 799	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 671
AK405	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 320	SEQ ID NO: 823	SEQ ID NO: 322	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM	SEQ ID NO: 759
	-	SEQ ID NO: 799	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 671
AK400	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 349	SEQ ID NO: 824	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM	SEQ ID NO: 760
	-	SEQ ID NO: 799	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 671
AK404	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 349	SEQ ID NO: 823	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM	SEQ ID NO: 761
	-	SEQ ID NO: 799	SEQ ID NO: 261	-	SEQ ID NO: 156	H-L1-MM	SEQ ID NO: 671

[598] Также получают маскированные полипептидные конструкции П-2, которые содержат полипептид П-2 или его функциональный фрагмент, первый маскирующий фрагмент, второй маскирующий фрагмент, первый домен продления периода полужизни, второй домен продления периода полужизни, такой как альбумин, антитело или его фрагмент (например Fc-область, тяжелую цепь и/или легкую цепь), альбуминсвязывающий пептид, IgG-связывающий пептид или полиаминокислотную последовательность. Первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни, второй маскирующий фрагмент связан с полипептидом П-2 или его функциональным фрагментом, либо второй маскирующий фрагмент, либо полипептид П-2 или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни, и первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни. Некоторые из конструкций также содержат линкер, который связывает первый маскирующий фрагмент с первым доменом продления периода полужизни, и/или линкер, который связывает второй маскирующий фрагмент с полипептидом П-2 или его функциональным фрагментом. Первый и второй домены продления периода полужизни некоторых конструкций также связаны. В некоторых конструкциях первый и второй домены с продленным периодом полужизни некоторых конструкций связаны посредством линкера. Некоторые из конструкций содержат расщепляемый пептид в линкере, связывающем первый маскирующий фрагмент с первым доменом продления периода полужизни и/или содержат расщепляемый пептид в линкере, связывающий второй маскирующий фрагмент с полипептидом П-2 или его функциональным фрагментом, что приводит к образованию активируемой маскированной полипептидной конструкции П-2. Конструкции маскированного полипептида П-2, которые не содержат расщепляемый пептид ни в линкере, который связывает первый маскирующий фрагмент с первым доменом продления периода полужизни, ни в линкере, связывающем второй маскирующий фрагмент с полипептидом П-2 или его функциональным фрагментом, также называются неактивируемыми конструкциями маскированного полипептида П-2 или конструкциями неактивируемого полипептида П-2, поскольку они не содержат расщепляемый пептид. Структура и состав иллюстративных полипептидных конструкций П-2 представлены в Табл. 10.

Таблица 10

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N-к C-концу)
4000	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM
	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM
4001	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM
	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM
4002	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM
	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM
4003	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	MM-L1-H
	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 18	SEQ ID NO: 156	MM-L2-C-L1-H
4004	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	MM-L1-H
	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 156	MM-L2-C-L1-H
4005	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	MM-L1-H
	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 156	MM-L2-C-L1-H
4006	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM
	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM

[599] Также получают маскированные полипептидные конструкции П-15, которые содержат полипептид П-15 или его функциональный фрагмент, первый маскирующий фрагмент, второй маскирующий фрагмент, первый домен продления периода полужизни, второй домен продления периода полужизни, такой как альбумин, антитело или его фрагмент (например Fc-область, тяжелую цепь и/или легкую цепь), альбуминсвязывающий пептид, IgG-связывающий пептид или полиаминокислотную последовательность. Первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни, второй маскирующий фрагмент связан с полипептидом П-15 или его функциональным фрагментом, либо второй маскирующий фрагмент, либо полипептид П-15 или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни, и первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни. Некоторые из конструкций также содержат линкер, который связывает первый маскирующий фрагмент с первым доменом продления периода полужизни, и/или линкер, который связывает второй маскирующий фрагмент с полипептидом П-15 или его функциональным фрагментом. Первый и второй домены продления периода полужизни некоторых конструкций также связаны. В некоторых конструкциях первый и второй домены с продленным периодом полужизни некоторых конструкций связаны посредством линкера. Некоторые из конструкций содержат расщепляемый пептид в линкере, связывающем первый маскирующий фрагмент с первым доменом продления периода полужизни и/или содержат расщепляемый пептид в линкере, связывающий второй маскирующий фрагмент с полипептидом П-15 или его функциональным фрагментом, что приводит к образованию активируемой маскированной полипептидной конструкции П-15. Конструкции маскированного полипептида П-15, которые не содержат расщепляемый пептид ни в линкере, который связывает первый маскирующий фрагмент с первым доменом продления периода полужизни, ни в линкере, связывающем второй маскирующий фрагмент с полипептидом П-15 или его функциональным фрагментом, также называются неактивируемыми конструкциями маскированного полипептида П-15 или конструкциями неактивируемого полипептида П-15, поскольку они не содержат расщепляемый пептид. Структура и состав иллюстративных полипептидных конструкций П-2 представлены в Табл. 11.

Таблица 11

№ конструкции	Цитокин или его функциональный фрагмент (С)	Линкер (L1)	Маскирующий фрагмент (MM)	Линкер (L2)	Домен продления периода полужизни (H)	Структура (направление от N-к С-концу)
3034	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM
	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 232	SEQ ID NO: 235	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM
3035	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM
	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 233	SEQ ID NO: 235	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM
3036	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	H-L1-MM
	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 234	SEQ ID NO: 235	SEQ ID NO: 156	H-L1-C-L2-MM
3038	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	MM-L1-H
	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 232	SEQ ID NO: 235	SEQ ID NO: 156	MM-L2-C-L1-H
3039	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	MM-L1-H
	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 233	SEQ ID NO: 235	SEQ ID NO: 156	MM-L2-C-L1-H
3040	-	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 10	-	SEQ ID NO: 155	MM-L1-H
	SEQ ID NO: 167	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 234	SEQ ID NO: 235	SEQ ID NO: 156	MM-L2-C-L1-H

Пример 2: Характеристика маскированных полипептидов IL-2 и IL-15 *in vitro*

[600] Конструкции маскированного полипептида IL-2 и конструкции маскированного полипептида IL-15, полученные в Примере 1, характеризуют с использованием нескольких клеточных и функциональных анализов *in vitro*.

Получение

[601] Плазмиды, кодирующие конструкции (например, конструкции маскированного полипептида IL-2 и конструкции маскированного полипептида IL-15), трансфицировали либо в клетки Expi293 (Life Technologies A14527), либо в клетки HEK293-6E (National Research Council; NRC). Трансфекции выполняли с использованием 1 мг общей ДНК с использованием PEIpro (Polyplus Transfection, 115-100) в соотношении 1:1 с общей ДНК. Каждое из ДНК и PEI добавляли к 50 мл среды OptiMem (Life Technologies 31985088) и стерильно фильтровали. ДНК и PEI объединяли в течение 10 минут и добавляли к клеткам Expi293 с плотностью клеток $1,8-2,8 \times 10^6$ клеток/мл или $0,85-1,20 \times 10^6$ клеток/мл для клеток expi293 или клеток HEK293 соответственно, и жизнеспособностью по меньшей мере 95%. Трансфекцию HEK293-6E проводили с плотностью клеток и жизнеспособностью по меньшей мере 95%, следуя тому же протоколу, который использовали для трансфекций Expi293. Через 5-7 дней клетки осаждали центрифугированием при $3000 \times g$ и супернатант фильтровали через мембрану 0,2 мкм. Смолу с белком А (CaptivA, Repligen CA-PRI-0005) добавляли к отфильтрованному супернатанту и инкубировали в течение по меньшей мере 2 часов при 4°C при встряхивании. Смолу упаковывали в колонку, промывали 15 объемами колонки 20 mM цитрата, pH 6,5, а затем промывали 15 объемами колонки 20 mM цитрата, 500 mM хлорида натрия, pH 6,5. Связанный белок элюировали из колонки 20 mM цитратом, 100 mM NaCl, pH 2,9.

[602] Титр (мг/л) иллюстративных полученных конструкций, включая исходные (например немаскированные) и маскированные конструкции, представлен в Табл. 12 ниже.

Таблица 12

ID конструкции	Титр (мг/л)	ID конструкции	Титр (мг/л)	ID конструкции	Титр (мг/л)	ID конструкции и	Титр (мг/л)
AK032	5,8	AK063	3,5	AK165	13,5	AK314	60
AK033	9,6	AK064	1,5	AK166	17,1	AK315	59,8
AK034	13,9	AK065	3,2	AK167	56,4	AK316	69,2
AK035	16,7	AK066	3,5	AK168	36,1	AK325	3,2
AK036	25	AK076	1,4	AK184	21,6	AK326	33,1
AK037	11,1	AK077	1,5	AK188	12,8	AK327	68,5
AK039	3,5	AK078	4,4	AK203	83,2	AK328	28,8

AK040	0,7	AK079	4,3	AK209	27,3	AK329	181
AK042	1,9	AK080	2,3	AK211	43,8	AK330	51
AK043	1,1	AK081	23,5	AK212	18,2	AK341	58
AK044	15	AK083	3,3	AK225	44,1	AK342	24
AK045	9,3	AK084	3,2	AK226	20,2	AK349	39,6
AK046	12,5	AK085	2,1	AK227	27,4	AK350	7,8
AK047	18,5	AK086	3,2	AK228	20,1	AK351	9,3
AK048	24	AK087	3,2	AK231	19,3	AK352	9,9
AK049	12,2	AK088	41	AK233	36,4	AK353	11
AK050	12,8	AK090	14,8	AK234	33,3	AK354	9,8
AK051	11,9	AK092	6,3	AK235	35,9	AK355	13,7
AK052	10	AK094	17,1	AK252	68	AK357	13,1
AK053	15,2	AK106	10,5	AK253	41,4	AK358	12,4
AK054	11,9	AK107	0	AK304	19,9	AK359	10,4
AK055	13,2	AK109	12,6	AK305	53,2	AK360	11,1
AK056	9,2	AK110	23,8	AK306	29,3	AK361	13,7
AK057	10,8	AK111	12,7	AK307	62,9	AK362	9,3
AK058	13,5	AK112	21,6	AK308	74,5	AK363	13,2
AK059	3,7	AK113	25,3	AK309	90,8	AK364	7,9
AK060	1,2	AK114	29	AK310	44	AK365	10,9
AK061	3,5	AK115	15	AK311	64,9	AK366	8,3
AK062	0,6	AK163	7,5	AK312	154	AK367	10,3
AK248	47,7	AK164	4	AK313	81,2	AK368	7,1

Анализ SDS-PAGE

[603] Для анализа SDS-PAGE образцы белка получали с использованием 4х буфера для образцов Laemmli (номер в каталоге BioRad 1610747). Для восстановленных образцов добавляли 0,1 М раствор Bond Breaker TCEP (Thermo Scientific 77720) и образцы нагревали в течение 5 минут при 65 °С. Белки загружали в 12-луночный 4-12% белковый гель Bis-Tris NuPage (Invitrogen NP0322BOX) с 4 мкг белка на лунку. Гель окрашивали с помощью SimplyBlue SafeStain (Invitrogen LC6065).

[604] Как изображено на Фиг. 8, анализ SDS-PAGE проводили на проточных (FT) образцах (т.е., белках, которые не связались с колонкой с белком А) и элюированных (E) образцах (т.е., белках, которые связывались с колонкой с белком А и были элюированы из него) после получения и очистки иллюстративных конструкций (AK304, AK305, AK307, AK308, AK309, AK310, AK311, AK312, AK313, AK314 и AK315). Эти иллюстративные данные демонстрируют, что описанные в настоящем документе конструкции можно

успешно получать и очищать.

Репортерные биоанализы

[605] Репортерные биоанализы проводят на маскированных полипептидных конструкциях IL-2 и маскированных полипептидных конструкциях IL-15, наряду с немаскированными исходными конструкциями или другими контролями, для мониторинга активации нисходящего пути, такого как путь JAK-STAT.

[606] В некоторых исследованиях репортерные клетки HEK-Blue IL-2 (Invivogen) использовали для исследования активации пути JAK-STAT в соответствии со следующим способом. Клетки HEK-Blue IL-2 пассаж 6 (p6) (97% живых) промывали 2х аналитической средой (DMEM+10% инактивированная нагреванием FBS), высевали в 3 планшета по 5e4 клеток/лунку в 150 мкл среды для анализа и выдерживали в среде для анализа приблизительно 2 часа для того, чтобы обеспечить прикрепление к планшету. Каждую исследуемую конструкцию разбавляли до 300 пМ в среде для анализа, затем разбавляли 1:2 на планшете. Добавляли 50 мкл каждого разведения для конечной исходной концентрации 75 пМ. Супернатант клеток HEK-Blue IL-2 собирали через 24 часа и инкубировали с Quantiblock (180 мкл+20 мкл супернатанта) совместно с 3 лунками/планшет среды для анализа при 37°C в течение 1 часа. Оптическую плотность считывали с помощью Biotek Neo2 при 625 нм. В одном исследовании иллюстративную конструкцию маскированного полипептида IL-15 AK248 исследовали в соответствии с этим протоколом, с предварительным воздействием протеазы MMP10 или без него, вместе с рекомбинантным человеческим IL-15 (rhIL-15) в качестве положительного контроля. Как изображено на Фиг. 22А и 22В, не было обнаружено активации пути JAK-STAT при использовании маскированной полипептидной конструкции IL-15 AK248 (без расщепления протеазой), но после расщепления активирующей протеазой наблюдали высокие уровни активации пути JAK-STAT. Это демонстрирует, что иллюстративный полипептид IL-15 может быть эффективно маскирован, а также активирован посредством расщепления протеазой.

[607] В некоторых исследованиях клетки CTLL2 использовали для исследования активации пути JAK-STAT в соответствии со следующим способом. Клетки CTLL2 высевали из расчета 40000 клеток на лунку в RPMI с 10% FBS. Разведения конструкций, представляющих интерес (например маскированной полипептидной конструкции IL-15 AK248, с предварительным воздействием протеазы MMP или без него, или положительного контроля, такого как rhIL-15), добавляли и инкубировали при 37 градусах. Через 6 часов добавляли реагент Bio-Glo и измеряли люминесценцию с помощью планшет-ридера BioTek Synergy Neo2.

Связывание рецепторов

[608] Оценивают связывание маскированных полипептидных конструкций IL-2 и маскированных полипептидных конструкций IL-15, полученных в Примере 1. Для маскированных полипептидных конструкций IL-2 в некоторых экспериментах планшеты для ELISA покрывают субъединицей рецептора, такой как IL-2R α (также обозначаемый

как CD25), IL-2R β (также обозначаемый как CD122) или IL-2R γ (также обозначаемый как CD132) или их комбинациями. Для маскированных полипептидных конструкций IL-15 в некоторых экспериментах планшеты для ELISA покрывают субъединицей рецептора, такой как IL-15R α (также обозначаемый как CD122), IL-2R β или IL-2R γ (также обозначаемый как CD132) или их комбинациями. Разведения маскированных полипептидных конструкций IL-2 или маскированных полипептидных конструкций IL-15 позволяют связываться с субъединицей (субъединицами) рецептора и выявляются с помощью конъюгированного с HRP детектирующего антитела к huFc. Связывание маскированных полипептидных конструкций IL-2 и маскированных полипептидных конструкций IL-15 определяют в условиях с расщеплением протеазой и без него.

Внутриклеточное связывание рецепторов

[609] Оценивают внутриклеточное связывание рецепторов маскированных полипептидных конструкций IL-2 и маскированных полипептидных конструкций IL-15, полученных в Примере 1. Разведения маскированных полипептидных конструкций IL-2 или полипептидных конструкций IL-15 позволяют связываться с лимфоцитами периферической крови или клетками культуры ткани, такими как клетки STLL2, и выявляются с помощью сортировки активируемых флуоресценцией клеток (FACS) с использованием конъюгированного с FITC антитела к huFc или детектирующего конъюгированного с FITC антитела к альбумину. Связывание маскированных полипептидных конструкций IL-2 и полипептидных конструкций IL-15 определяют в условиях с расщеплением протеазой и без него.

Аффинность связывания рецепторов

[610] Оценивают аффинность связывания маскированных полипептидных конструкций IL-2 и маскированных полипептидных конструкций IL-15, полученных в Примере 1. Например, поверхностный плазмонный резонанс (SPR) выполняют при комнатной температуре и/или 37 °C. Рецепторы IL-2 (например, IL-2R α , IL-2R β или IL-2R γ или их комбинации) связывают с микрочипами CM5 (GE Healthcare) посредством химии EDC/NHS. Рецепторы IL-15 (например, IL-15R α , IL-2R β или IL-2R γ или их комбинации) связывают с микрочипами CM5 (GE Healthcare) посредством химии EDC/NHS. Конструкции маскированного полипептида IL-2 или конструкции маскированного полипептида IL-15 пропускают через чипы в диапазоне концентраций для получения констант диссоциации для скоростей для скоростей ассоциации и диссоциации. Аффинность связывания маскированных полипептидных конструкций IL-2 и полипептидных конструкций IL-15 определяют в условиях с расщеплением протеазой и без него.

[611] Для некоторых исследований SPR, изучающих связывание маскированных и немаскированных полипептидных конструкций IL-2, поверхностные сенсорные чипы из гидрогеля с карбоксиметилдекстраном Reichert покрывали и иммобилизовали конструкцией, представляющей интерес (например, маскированной полипептидной конструкцией IL-2 или немаскированной полипептидной конструкцией IL-2) в

концентрации 30 мкг/мл в 10 mM ацетате натрия, pH 5,0, разведенном 1:1 в EDC и NHS. Готовили разведения CD25-Fc или Fc-CD122 в PBS (CD25: 16 нМ, 8 нМ, 4 нМ, 2 нМ, 1 нМ и CD122: 500 нМ, 250 нМ, 125 нМ, 62,5 нМ, 31,25 нМ). Используя 4Channel SPR Reichert, разведения CD25 или CD122 пропускали через зажимы с иммобилизованной конструкцией для определения скорости ассоциации при 25 °С. В равновесии (приблизительно 3-4 минуты) проточный буфер заменяли на PBS для определения скоростей диссоциации более 1 минуты. Между каждым циклом чип регенерировали с помощью 10 mM глицина, pH 2,0. Аналогичный подход применяют для исследования связывания маскированных и немаскированных полипептидных конструкций IL-15 с соответствующими партнерами по связыванию в соответствующих концентрациях в соответствии с идеями и примерами настоящего документа.

[612] На Фиг. 9А-9D изображены результаты анализа SPR, который исследовал связывание иллюстративных маскированных полипептидных конструкций IL-2 (AK215 и AK216) с CD25-Fc. На Фиг. 9А изображено взаимодействие между AK215 и CD25-Fc, на Фиг. 9В изображено взаимодействие между AK216 и CD25-Fc, на Фиг. 9С изображено взаимодействие между контролем рекомбинантным человеческим IL2 (rhIL2) и CD25-Fc. На Фиг. 9D представлена таблица, обобщающая данные, полученные для константы ассоциации (k_a), константы диссоциации (k_d), константы равновесной диссоциации (KD), а также значения χ^2 -значения и U-значения для каждого взаимодействия. Эти результаты демонстрируют, что эти иллюстративные маскированные полипептидные конструкции IL-2 не демонстрировали обнаружимого связывания с CD25-Fc, тогда как контроль rhIL2 демонстрировал обнаружимое связывание.

[613] На Фиг. 10А-10D изображены результаты анализа SPR, который исследовал связывание иллюстративных маскированных полипептидных конструкций IL-2 (AK216 и AK218) с CD122-Fc. На Фиг. 10А изображено взаимодействие между AK216 и CD122-Fc, на Фиг. 10В изображено взаимодействие между AK218 и CD122-Fc, на Фиг. 10С изображено взаимодействие между контролем рекомбинантным человеческим IL2 (rhIL2) и CD122-Fc. На Фиг. 10D представлена таблица, обобщающая данные, полученные для константы ассоциации (k_a), константы диссоциации (k_d), константы равновесной диссоциации (KD), а также значения χ^2 -значения и U-значения для каждого взаимодействия. Эти результаты демонстрируют, что эти иллюстративные маскированные полипептидные конструкции IL-2 не демонстрировали обнаружимого связывания с CD122-Fc, тогда как контроль rhIL2 демонстрировал обнаружимое связывание. Дополнительные иллюстративные данные SPR представлены ниже в Табл. 13 для различных исследуемых конструкций, включая маскированные и немаскированные конструкции. Для некоторых структур, при необходимости, определяли KD для конструкции с предварительным расщеплением протеазой или без него.

Таблица 13

Конструкция	KD для CD25 (без расщепления)	KD для CD122 (без расщепления)	KD для CD122 (после расщепления)
--------------------	--------------------------------------	---------------------------------------	---

	протеазой)		протеазой)		протеазой)	
rhIL2	1,2 нМ		124 нМ		н./о.	
AK032	1,76 нМ		260 нМ		н./о.	
AK033	Связывание	не	368 нМ*		н./о.	
	обнаружено					
AK034	Связывание	не	Не определяли		н./о.	
	обнаружено					
AK035	Связывание	не	110 нМ		н./о.	
	обнаружено					
AK042	Связывание	не	4,1 нМ		н./о.	
	обнаружено					
AK049	Связывание	не	4,67 нМ		н./о.	
	обнаружено					
AK056	Связывание	не	Не определяли		н./о.	
	обнаружено					
AK076	2,28 нМ		Связывание	не		
			обнаружено			
AK077	4,77 нМ		Связывание	не		
			обнаружено			
AK078	3,41 нМ		Связывание	не		
			обнаружено			
AK081	1,66 нМ		489 нМ*		н./о.	
AK109	1,67 нМ		Связывание	не	118 нМ	
			обнаружено			
AK110	0,911 нМ		Связывание	не	195 нМ	
			обнаружено			
AK111	0,4 нМ		Связывание	не	235 нМ	
			обнаружено			
AK112	0,724 нМ		Связывание	не	Связывание	
			обнаружено		обнаружено	
AK113	Связывание	не	191 нМ		74,3 нМ	
	обнаружено					
AK114	Связывание	не	10,2 нМ		13,8 нМ	
	обнаружено					

AK168	Связывание обнаружено	не	Не определяли	175 нМ
AK215	Связывание обнаружено	не		
AK216	Связывание обнаружено	не		
AK217	1,9 нМ			
AK218	Слабое связывание			
AK219	Слабое связывание			
AK220	Слабое связывание или связывание обнаружено	не		
AK221	Слабое связывание			
AK222	Слабое связывание или связывание обнаружено	не		
AK223	Связывание обнаружено	не		
AK224	Связывание обнаружено	не		

Расщепление

[614] Скорость расщепления маскированных полипептидных конструкций ПЛ-2 оценивают путем проведения анализов связывания рецепторов, как описано выше, после инкубации маскированных пептидных конструкций ПЛ-2 в присутствии или в отсутствие протеазы и в случае протеазы, если таковая имеется, инактивируют в различные моменты времени, например, путем добавления EDTA. Скорость расщепления маскированных полипептидных конструкций ПЛ-15 оценивают путем проведения анализов связывания рецепторов, как описано выше, после инкубации маскированных пептидных конструкций ПЛ-15 в присутствии или в отсутствие протеазы и в случае протеазы, если таковая имеется, инактивируют в различные моменты времени, например, путем добавления EDTA. Скорость расщепления также оценивают с помощью электрофореза в восстанавливающем и невосстанавливающем полиакриламидном геле (PAGE) и масс-спектрометрического анализа всей массы и анализа пептидной карты. Скорость расщепления также оценивают с использованием анализа *ex vivo*, в котором конструкции маскированного полипептида ПЛ-2 или конструкции маскированного полипептида ПЛ-15 подвергают воздействию лимфоцитов периферической крови человека, мышцы или яванского макака или нормальной ткани человека или ткани опухоли человека.

[615] Для некоторых исследований активации протеаз MMP10 разбавляли до 50 нг/мкл в буфере для расщепления MMP и активировали с помощью 1 мМ APMA в течение 2 часов при 37 °С. 5 мкл протеазы (всего 250 нг) активированной протеазы инкубировали с 1 мкМ маскированных цитокиновых конструкций (например, маскированных полипептидных конструкций IL-2) и инкубировали при 37 градусах в течение 2 часов. Расщепление оценивали с помощью SDS-PAGE с использованием белковых гелей AnykD™ Criterion™ TGX Stain-Free™. Аналогичный подход используют для исследования расщепления другими протеазами.

[616] На Фиг. 11А изображена иллюстративная структура маскированного полипептида IL-2 до (слева) и после (справа) расщепления протеазой, такой как протеаза, ассоциированная с опухолевым окружением. На Фиг. 11В изображен анализ SDS-PAGE иллюстративной конструкции маскированного полипептида IL-2, который инкубировали в отсутствие (левая полоса) или в присутствии (правая полоса) протеазы MMP10.

Пролиферация

[617] Оценивают пролиферацию клеточных линий тканевой культуры, чувствительных к IL-2 и IL-15, таких как CTLL2, YT, TF1B, LGL, HH и CT6, после обработки маскированными полипептидными конструкциями IL-2 или маскированными полипептидными конструкциями IL-15, созданными в Примере 1. Для экспериментов с использованием маскированных полипептидных конструкций IL-2 клетки помещают в 96-луночные планшеты для тканевых культур в среде, не содержащей IL-2, на 2-4 часа, а затем обрабатывают маскированными полипептидными конструкциями IL-2 в различных концентрациях. Для экспериментов с использованием маскированных полипептидных конструкций IL-15 клетки помещают в 96-луночные планшеты для тканевых культур в среде, не содержащей IL-15, на 2-4 часа, а затем обрабатывают маскированными полипептидными конструкциями IL-15 в различных концентрациях. После инкубации при 37 градусах в течение 24-48 часов количество клеток определяют добавлением MTS, аламарового синего, люциферазы или аналогичного реагента для обнаружения метаболизма, а считывание колориметрических, флуоресцентных или люциферазных показаний обнаруживают с помощью считывающего устройства спектрофотометрического планшет-ридера.

[618] Также оценивают пролиферацию иммунных клеток после обработки конструкциями маскированного полипептида IL-2 или конструкциями маскированного полипептида IL-15, полученными в Примере 1. Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) человека, мыши или яванского макака обрабатывают конструкциями в различных концентрациях, и пролиферацию клеточных типов, таких как естественные клетки-киллеры (NK), CD8⁺ Т-клетки, CD4⁺ Т-клетки и/или Treg-клетки, определяют путем окрашивания в отношении определенного типа клеток и анализа с помощью сортировки клеток с активацией флуоресценции (FACS). В некоторых экспериментах некоторые PBMC обрабатывают контролями для сравнения. В некоторых экспериментах некоторые PBMC обрабатывают альдеслейкином в качестве контроля для обработки

маскированного полипептида IL-2. В некоторых экспериментах конструкции маскированного полипептида IL-2 и конструкции маскированного полипептида IL-15 исследуют в условиях с расщеплением протеазой и без него (например, активации). В некоторых экспериментах NK-клетки окрашивают как CD45⁺ CD3⁻ CD56⁺, CD8⁺ T-клетки окрашивают как CD45⁺ CD3⁺ CD8⁺, CD4⁺ T-клетки окрашивают как CD45⁺ CD3⁺ CD4⁺ CD25⁻, и Treg-клетки окрашивают как CD45⁺ CD3⁺ CD4⁺ CD25⁺. FOXP3⁺. В некоторых экспериментах PBMC обрабатывают в течение пяти дней. В некоторых экспериментах PBMC также окрашивают Ki67, маркером пролиферации клеток. В некоторых экспериментах PBMC маркируют CFSE (Sigma-Aldrich) перед обработкой, и пролиферацию измеряют путем определения степени разведения CFSE. В некоторых экспериментах каждую конструкцию, а также альдеслейкин и/или другие контроли вводят в одной или нескольких концентрациях, таких как одна или несколько концентраций в диапазоне от 0,0001 до 500 нМ.

Активация STAT5

[619] Также оценивают активацию переносчика сигнала и активатора транскрипции 5 (STAT5) после обработки конструкциями маскированного полипептида IL-2 или конструкциями маскированного полипептида IL-15, полученными в Примере 1. PBMC обрабатывают конструкциями в течение определенного периода времени, а затем незамедлительно фиксируют для сохранения статуса фосфорилирования белков, таких как STAT5. В некоторых экспериментах некоторые PBMC обрабатывают контролями для сравнения. В некоторых экспериментах некоторые PBMC обрабатывают альдеслейкином в качестве контроля для обработки маскированного полипептида IL-2. В некоторых экспериментах конструкции маскированного полипептида IL-2 и конструкции маскированного полипептида IL-15 исследуют в условиях с расщеплением протеазой и без него (например, активации). В некоторых экспериментах PBMC обрабатывают в течение 10 минут, 15 минут, 20 минут или 25 минут. В некоторых экспериментах каждую конструкцию, а также альдеслейкин и/или другие контроли вводят в одной или нескольких концентрациях, таких как одна или несколько концентраций в диапазоне от 0,0001 до 500 нМ. В некоторых экспериментах фиксированные и проницаемые PBMC затем окрашивают антителом, специфичным в отношении фосфорилированного STAT5 (фосфо-STAT5), и анализируют с помощью проточной цитометрии. В некоторых экспериментах измеряют общий и фосфорилированный уровни STAT5. Статус фосфо-STAT5 некоторых типов клеток, таких как NK-клетки, CD8⁺ T-клетки, CD4⁺ T-клетки и/или Treg-клетки, определяют путем окрашивания для конкретного типа клеток. В некоторых экспериментах NK-клетки окрашивают как CD45⁺ CD3⁻ CD56⁺, CD8⁺ T-клетки окрашивают как CD45⁺ CD3⁺ CD8⁺, CD4⁺ T-клетки окрашивают как CD45⁺ CD3⁺ CD4⁺ CD25⁻, и Treg-клетки окрашивают как CD45⁺ CD3⁺ CD4⁺ CD25⁺. FOXP3⁺.

[620] Также оценивают активацию STAT5 в клеточных линиях мыши, таких как клетки CTLL-2, после обработки конструкциями маскированного полипептида IL-2 или конструкциями маскированного полипептида IL-15, полученными в Примере 1. В

некоторых экспериментах некоторые клетки CTLL-2 обрабатывают контролями для сравнения. В некоторых экспериментах некоторые клетки CTLL-2 обрабатывают альдеслейкином в качестве контроля для обработки маскированным полипептидом IL-2. В некоторых экспериментах конструкции маскированного полипептида IL-2 и конструкции маскированного полипептида IL-15 исследуют в условиях с расщеплением протеазой и без него (например, активации). В некоторых экспериментах клетки CTLL-2 обрабатывают в течение 10 минут, 15 минут, 20 минут или 25 минут, а затем фиксируют для сохранения статуса фосфорилирования белков, таких как STAT5. В некоторых экспериментах каждую конструкцию, а также альдеслейкин и/или другие контроли вводят в одной или нескольких концентрациях. В некоторых экспериментах измеряют общий и фосфорилированный уровни STAT5.

[621] В некоторых исследованиях уровни внутриклеточной активации STAT5 (сигнал pSTAT5), индуцированной IL-2, определяли следующим способом. Замороженные РВМС человека размораживали на водяной бане и добавляли к 39 мл предварительно нагретой среды (среда RPMI1640 плюс 10% FBS, 1% P/S, 1% NEA), центрифугировали и восстанавливали в среде с концентрацией 10×10^6 клеток/мл. Клетки высевали из расчета 5×10^5 клетки на лунку в 96-луночном планшете. IL-2 (например rhIL-2 или иллюстративная конструкция полипептида, содержащая IL-2), разведенный в среде, добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37°C в течение 20 минут. Затем клетки фиксировали 200 мкл/лунка буфера для фиксации (eBiosciences) при 4°C в течение ночи. После центрифугирования фиксированные клетки ресуспендировали в 200 мкл холодного буфера BD Phosflow и инкубировали при 4°C в течение 30 минут. После двукратного промывания клеток их обрабатывали Biolegend Human TruStain FcX (в общей сложности 2,5 мкл в 50 мкл на образец в буфере для окрашивания) в течение 5 минут на льду. Добавляли окрашивающие антитела; 5 мкл pSTAT5-APC (pY694, BD), 10 мкл CD56-BV421 (5.1H11, Biolegend), 10 мкл CD4-PerCP/Cy5.5 (A161A1, Biolegend) и 10 мкл CD3-FITC (UCHL1, Biolegend) и инкубировали в течение 30 минут на льду в защищенном от света месте. Клетки промывали 2 раза, ресуспендировали и анализировали с помощью проточной цитометрии.

[622] На Фиг. 12A-12D изображены результаты исследований активации STAT5, как описано выше, с использованием иллюстративных конструкций АК032, АК035, АК041 или rhIL-2 в качестве контроля. Уровни активации STAT5 (%) представлены для NK-клеток, CD8+ Т-клеток, эффекторных Т-клеток (Teff) и регуляторных Т-клеток (Treg). Конструкции АК032 и АК035 содержат полипептид IL-2, связанный с Fc-доменом, и конструкция АК041 содержит полипептид IL-2, связанный с доменом CD25 и доменом CD122. Как продемонстрировано, сконструированные полипептидные конструкции IL-2 в некоторых вариантах осуществления могут снижать активацию Treg-клеток, сохраняя или усиливая активацию CD8+ Т-клеток и NK-клеток.

[623] На Фиг. 13A-13C изображены результаты исследований активации STAT5, как описано выше, с использованием иллюстративных конструкций АК081 и АК032.

Исследовали конструкцию АК081 с предварительным воздействием MMP10 и без него. Также исследовали изотипический контроль, а также отличный от IL-2 отрицательный контроль. Уровни активации STAT5 (%) представлены для НК-клеток, CD8+ Т-клеток и CD4+ Т-клеток. Конструкции АК032 и АК081 содержат полипептид IL-2, связанный с Fc-доменом, и конструкция АК081 содержит расщепляемый пептид в линкере, соединяющем полипептид IL-2 с Fc-доменом. Как продемонстрировано, немаскированная конструкция мономерного полипептида АК081 IL-2 стимулирует активацию STAT5 РВМС с активацией протеазой или без нее, аналогично немаскированной димерной полипептидной конструкции АК032 IL-2.

[624] На Фиг. 14А-14D изображены результаты исследований активации STAT5, как описано выше, с использованием иллюстративных конструкций АК081 и АК111, а также контролей, которые включали rhIL-2 и антитело к RSV. Также исследовали контроль без обработки. Конструкция АК111 представляет собой иллюстративную конструкцию маскированного полипептида IL-2, которая включает форму полипептида IL-2 дикого типа (за исключением мутации С125А). Как изображено на Фиг. 14А-14С, конструкция АК111 маскированного полипептида IL-2 продемонстрировала сниженную активацию STAT5 по сравнению с конструкцией АК081 немаскированного полипептида IL-2. На Фиг. 14D представлены данные EC50 (пМ) и кратности изменения для конструкций АК081, АК111, а также для контроля rhIL-2.

[625] На Фиг. 15А-15D изображены результаты исследований активации STAT5, как описано выше, с использованием иллюстративных конструкций АК167 и АК168, а также контролей, которые включали rhIL-2 и антитело к RSV. Также исследовали контроль без обработки. Конструкция АК168 представляет собой иллюстративную конструкцию маскированного полипептида IL-2, которая включает мутантную форму полипептида IL-2, которая устраняет или ослабляет связывание CD25. Конструкция АК167 представляет собой исходную немаскированную форму конструкции АК168, которая содержит тот же мутантный полипептид IL-2. Как изображено на Фиг. 15А-15С, немаскированная конструкция АК167 демонстрировала сниженную активацию STAT5 по сравнению с контролем rhIL-2, а маскированная полипептидная конструкция IL-2 АК168 не индуцировала обнаружимую активацию STAT5. На Фиг. 15D представлены данные EC50 (пМ) и кратности изменения для конструкций АК167, АК168, а также для контроля rhIL-2. EC50 конструкции АК168 не поддается обнаружению (нет данных).

[626] На Фиг. 16А-16D изображены результаты исследований активации STAT5, как описано выше, с использованием иллюстративных конструкций АК165 и АК166, а также изотипического контроля и контроля IL-2-Fc, которые ранее подвергались (+ MMP10) или не подвергались воздействию протеазы MMP10. Конструкция АК166 представляет собой иллюстративную конструкцию маскированного полипептида IL-2, которая включает форму полипептида IL-2 дикого типа (за исключением мутации С125А). Конструкция АК165 представляет собой исходную немаскированную форму конструкции АК166, которая содержит тот же полипептид IL-2. Обозначение, изображенное на Фиг.

16A, также относится к Фиг. 16B, и обозначение, изображенное на Фиг. 16C, также относится к Фиг. 16D. Как изображено на Фиг. 16A-16D, активация STAT5 была значительно снижена для маскированной конструкции АК166 (без расщепления протеазой), но восстановилась до уровней, аналогичных контролю IL2-Fc, после воздействия активирующей протеазы MMP10.

[627] На Фиг. 17A-17C изображены результаты исследований активации STAT5, как описано выше, с использованием иллюстративных конструкций АК109 и АК110, а также изотипического контроля и контроля IL-2-Fc, которые ранее подвергались (+ MMP10) или не подвергались воздействию протеазы MMP10. Конструкции АК109 и АК110 представляют собой иллюстративные конструкции маскированных полипептидов IL-2, которые содержат домены продления периода полужизни, имеющие различные мутации гетеродимеризации. Обозначение, изображенное на Фиг. 17B, также относится к Фиг. 17A. Как изображено на Фиг. 17A-17C, активация STAT5 была значительно снижена для маскированной конструкции АК109 и АК110 (без расщепления протеазой), но значительно повысилась до уровней, достигая уровни контроля IL2-Fc, после воздействия активирующей протеазы MMP10.

[628] На Фиг. 18A-18D изображены результаты исследований активации STAT5, как описано выше, с использованием конструкций АК211, АК235, АК253, АК306, АК310, АК314 и АК316, а также контроля rhIL-2. Это включает конструкции, которые являются исходными немаскированными конструкциями (АК235, АК253, АК306, АК310, АК314), которые содержат различные мутации, которые модулируют связывание CD25. На Фиг. 18D изображены данные EC50 для каждой из исследуемых конструкций, а также для контроля rhIL-2.

[629] На Фиг. 19A-19D изображены результаты исследований активации STAT5, как описано выше, с использованием конструкций АК081, АК167, АК216, АК218, АК219, АК220 и АК223, которые активировали протеазой, а также с использованием контроля rhIL-2. Также исследовали контроль без обработки. Это включает маскированные конструкции полипептида IL-2 (АК216, АК218, АК219, АК220 и АК223), которые содержат различные мутации, которые модулируют связывание CD25. Конструкции предварительно подвергали действию активирующей протеазы перед исследованием их способности активировать STAT5. На Фиг. 19D изображены данные EC50 для каждой из исследуемых конструкций, а также для контроля rhIL-2.

[630] На Фиг. 20A-20C изображены результаты исследований активации STAT5, как описано выше, с использованием конструкций АК081, АК189, АК190 и АК210, а также контроля антителом к RSV. Это включает маскированные полипептидные конструкции IL-2 (АК189, АК190, АК210), которые содержат полипептид IL-2, имеющий мутацию С125А, и содержат такую же расщепляемую пептидную последовательность (RAAAVKSP; SEQ ID NO: 121), но имеющие разные линкерные последовательности вследствие различий в аминокислотных остатках на N-конце последовательности расщепления протеазой. Обозначение, изображенное на Фиг. 20A, также относится к Фиг.

20B и 20C.

[631] На Фиг. 21A-21C изображены результаты исследований активации STAT5, как описано выше, с использованием конструкций АК167, АК191, АК192 и АК193, а также контроля антителом к RSV. Это включает маскированные полипептидные конструкции IL-2 (АК189, АК190, АК210), которые содержат полипептид IL-2, имеющий мутации R38A, F42A, Y45A, E62A и C125A, и содержат такую же расщепляемую пептидную последовательность (RAAAVKSP; SEQ ID NO: 121), но имеющие различные линкерные последовательности вследствие различий в аминокислотных остатках на N-конце последовательности расщепления протеазой. Обозначение, изображенное на Фиг. 21A, также относится к Фиг. 20B и 20C.

Пример 3: Характеристика маскированных полипептидов IL-2 и IL-15 *in vivo*

Фармакокинетика

[632] Фармакокинетику маскированных полипептидных конструкций IL-2 и маскированных полипептидных конструкций IL-15, полученных в Примере 1, оценивают *in vivo* с использованием мышинных моделей.

[633] Мышей обрабатывают конструкциями внутривенно или подкожно, и концентрацию конструкции в плазме крови измеряют в динамике. В некоторых экспериментах некоторых мышей обрабатывают контролями для сравнения. В некоторых экспериментах некоторых мышей обрабатывают альдеслейкином в качестве контроля для обработки маскированного полипептида IL-2. В некоторых экспериментах мыши, которых обрабатывали, имели опухоли. В некоторых экспериментах мыши, которых обрабатывали, не имели опухолей. В некоторых экспериментах мышей обрабатывают конструкциями, и кровь берут в разное время в течение курса обработки, который может включать забор крови до начала обработки и ее обработку для получения плазмы крови. В некоторых экспериментах кровь берут в различные моменты времени в течение двух, трех, четырех или более недель обработки. В некоторых экспериментах измеряют среднюю концентрацию введенных конструкций в плазме крови, а также альдеслейкина и/или других контролей. Конструкции маскированного полипептида IL-2 обнаруживают в образцах плазмы крови после разведения в PBS Tween с помощью ELISA, специфичного для IL-2 и человеческого Fc, и количественно оценивают с использованием стандартной кривой, построенной для каждой конструкции. Конструкции маскированного полипептида IL-15 обнаруживают в образцах плазмы крови после разведения в PBS Tween с помощью ELISA, специфичного для IL-15 и человеческого Fc, и количественно оценивают с использованием стандартной кривой, построенной для каждой конструкции. Процент полноразмерных и расщепленных конструкций определяют с помощью вестерн-блоттинга с использованием конъюгированного с HRP антитела к huFc и конъюгированного с HRP антитела к huIL-2, а также с помощью масс-спектрометрии всей массы и пептида.

[634] Фармакокинетику маскированных полипептидных конструкций IL-2 и маскированных полипептидных конструкций IL-15 в опухолях также оценивают *in vivo* с

использованием мышинных моделей. Мышей, имеющих опухолей, обрабатывают конструкциями внутривенно или подкожно, и оценивают концентрацию конструкции в опухолях мыши. В некоторых экспериментах некоторых мышей обрабатывают контролями для сравнения. В некоторых экспериментах некоторых мышей обрабатывают альдеслейкином в качестве контроля для обработки маскированного полипептида IL-2. Опухоли анализируют на наличие конструкций, а также на наличие определенных протеаз. В некоторых экспериментах опухоли анализируют на наличие и процентное содержание полноразмерных и расщепленных конструкций.

[635] Некоторые фармакокинетические исследования проводили в соответствии со следующим способом. Самок мышей C57BL/6 приобретали в Charles River Laboratories, и их возраст на момент начала исследования составлял 8-10 недель. Опухолевые клетки MC38 (5×10^5 на мышшь) вводили подкожно в правый бок каждой мыши. При достижении размера опухоли $\sim 100 \text{ мм}^3$ (0-й день) мыши получали однократную внутривенную дозу 2 мг/кг конструкции, представляющей интерес (например, немаскированной исходной полипептидной конструкции IL-2, маскированной полипептидной конструкции IL-2 или конструкции нерасщепляемого маскированного полипептида IL-2) в PBS. Исследованные конструкции включают, например, АК032, АК081, АК111, АК167, АК168, АК191, АК197, АК203, АК209 и АК211. Плазму собирали через 5 минут, в 1-й, 2-й и 5-й дни после введения препарата. Уровни лекарственного средства определяли с помощью ELISA с использованием антитела к человеческому IgG (клон M1310G05, Biolegend) в качестве захватывающего антитела и различных детектирующих антител. Конъюгированные с HRP или биотином детектирующие антитела к человеческому IgG (ab97225, Abcam) или CD122 (клон 9A2, Ancell) и IL-2 (Poly5176, Biolegend) использовали для определения общего и нерасщепленного уровней лекарственного средства соответственно.

[636] На Фиг. 23А-23D изображены результаты фармакокинетических исследований, как описано выше, на мышцах-опухоленосителях с использованием конструкций АК032, АК081, АК111, АК167 и АК168, а также контроля антителом к RSV. На Фиг. 23А представлено упрощенное изображение структуры каждой из исследованных конструкций. Как указано, АК111 и АК168 представляют собой иллюстративные маскированные полипептидные конструкции IL-2. Конструкции АК167 и АК168 содержат мутации (R38A, F42A, Y45A и E62A), которые устраняют или ослабляют связывание с CD25. На Фиг. 23В изображены уровни Fc в плазме крови (мкг/мл) при обнаружении человеческого IgG, на Фиг. 23С изображены уровни Fc-CD122 в плазме крови (мкг/мл) при обнаружении человеческого CD122, и на Фиг. 23D изображены уровни Fc-IL2 в плазме крови (мкг/мл) при обнаружении человеческого IL-2.

[637] На Фиг. 24А-24D изображены результаты фармакокинетических исследований, как описано выше, на мышцах-опухоленосителях с использованием конструкций АК167, АК191 АК197, АК203, АК209 и АК211, а также контроля антителом к RSV. На Фиг. 24А представлено упрощенное изображение структуры каждой из

исследованных конструкций. Как указано, АК168, АК191, АК197, АК203 и АК209 представляют собой иллюстративные маскированные полипептидные конструкции IL-2, каждая из которых содержит различную расщепляемую пептидную последовательность в линкере, соединяющем полипептид IL-2 с доменом продления периода полужизни. На Фиг. 24В изображены уровни Fc в плазме крови (мкг/мл) при обнаружении человеческого IgG, на Фиг. 24С изображены уровни Fc-IL2 в плазме крови (мкг/мл) при обнаружении человеческого IL-2, и на Фиг. 24D изображены уровни Fc-CD122 в плазме крови (мкг/мл) при обнаружении человеческого CD122. Как изображено на Фиг. 24В, 24С и 24D, уровни Fc, уровни Fc-IL2 и уровни Fc-CD122 в плазме крови аналогичны среди исследованных маскированных полипептидных конструкций IL-2.

Биоактивность у мышей

[638] Биоактивность маскированных полипептидных конструкций IL-2 и маскированных полипептидных конструкций IL-15 *in vivo*, полученных в Примере 1, оценивают *in vivo* с использованием мышиных моделей, таких как мышей C57BL/6. Мышей обрабатывали конструкциями и оценивали биоактивность *in vivo*. В некоторых экспериментах некоторых мышей обрабатывают контролями для сравнения. В некоторых экспериментах некоторых мышей обрабатывают альдеслейкином в качестве контроля для обработки маскированного полипептида IL-2. В некоторых экспериментах мыши, которых обрабатывали, имели опухоли. В некоторых экспериментах мыши, которых обрабатывали, не имели опухолей. В некоторых экспериментах у мышей оценивают дозозависимую экспансию иммунных клеток. В некоторых экспериментах мышам вводят различные дозы конструкции, альдеслейкина или другого контроля. В некоторых экспериментах мышей обрабатывают в течение двух недель. Кровь берут у мышей в различные моменты времени, а затем окрашивают с использованием антител к маркерам иммунных клеток, представляющих интерес. В некоторых экспериментах также определяют лонгитюдную кинетику пролиферации и экспансии определенных типов циркулирующих клеток, таких как CD8⁺ Т-клетки, NK-клетки и Treg-клетки, а также соотношение CD8⁺ Т-клеток и NK-клеток к CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ Treg-клеткам. В некоторых экспериментах мышей оценивают в отношении пропотевания жидкости через сосуды, например, путем оценки отека и инфильтрации лимфоцитов в определенных органах, таких как легкие и печень, как определяют по влажной массе органа и гистологическому анализу.

[639] В некоторых исследованиях оценивали пропотевание жидкости через сосуды для того, чтобы оценить потенциальные эффекты, связанные с токсичностью, опосредованные терапией на основе IL-2, с использованием следующего способа. Исследования токсичности повторных доз проводили с использованием самок мышей C57BL/6, которых приобретали в Charles River Laboratories, и их возраст на момент начала исследования составлял 8-10 недель, а масса - 18-22 грамма. Группы из 5 мышей получали ежедневные внутрибрюшинные инъекции маскированных и немаскированных конструкций IL-2 в PBS ежедневно в течение 4 или 5 дней. Исследуемые конструкции включали АК081, АК111, АК167 и АК168. Контрольное антитело также вводили в

качестве контроля. Через два часа после последней дозы всем мышам внутривенно вводили 0,1 мл 1% синего Эванса (Sigma, № в каталоге E2129) в PBS. Через два часа после введения синего Эванса мышей анестезировали и перфузировали 10 Ед./мл гепарина в PBS. Селезенку, легкие и печень собирали и фиксировали в 3 мл 4% PFA в течение 2 дней при 4°C перед измерением оптической плотности супернатанта при 650 нм с помощью NanoDrop OneC (Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс) в качестве индикатора утечки синего Эванса через сосуды. Фиксированные органы заливали парафином, делали срезы и окрашивали гематоксилином и эозином. Гистопатологические исследования и количественную оценку выполняли с привлечением NovoVita Histopath Laboratory, LLC. (Аллстон, Массачусетс) в соответствии со стандартными процедурами. На Фиг. 30А-30D изображены результаты исследования *in vivo*, как описано выше, для оценки пропотевания жидкости через сосуды с использованием иллюстративных маскированных полипептидных конструкций IL-2 AK111 и AK168, а также немаскированных полипептидных конструкций IL-2 AK081 и AK167 и контроля антителом к RSV. На Фиг. 30А изображен процент (%) потери массы тела, и на Фиг. 30В, 30С и 30D изображена масса в граммах печени, легких и селезенки соответственно для каждого из них.

[640] Пропотевание жидкости через сосуды, как указано с помощью измерения степени утечки красителя в ткани, также оценивали для конструкций AK081, AK111, AK167 и AK168 вместе с контролем антителом к RSV, результаты изображены на Фиг. 31А и 31В для печени и легкого соответственно. Степень утечки красителя измеряли на основе поглощения при 650 нм.

[641] Пропотевание жидкости через сосуды, как указано с помощью измерения степени периваскулярной инвазии моноклеарных клеток в ткань печени и легких, также оценивали для конструкций AK081, AK111, AK167 и AK168 вместе с контролем антителом к RSV, результаты изображены на Фиг. 32А и 32В для печени и легкого соответственно. Среднее количество моноклеарных клеток в печени (Фиг. 32А) и среднее количество моноклеарных клеток в легком (Фиг. 32В) изображено для каждого из них. Как изображено на Фиг. 32В, например, маскированные полипептидные конструкции IL-2 AK111 и AK168 не приводили к обнаружимому количеству моноклеарных клеток в легком, в отличие от немаскированных конструкций AK081 и AK167.

Фенотип инфильтрирующих иммунных клеток

[642] Оценивают фенотип иммунных клеток, инфильтрирующих опухоли *in vivo* в мышинных моделях, обработанных маскированными полипептидными конструкциями IL-2 или маскированными полипептидными конструкциями IL-15, полученными в Примере 1. Мышей обрабатывают конструкциями и оценивают фенотип иммунных клеток, инфильтрирующих опухоль. В некоторых экспериментах некоторых мышей обрабатывают контролями для сравнения. В некоторых экспериментах некоторых мышей обрабатывают альдеслейкином в качестве контроля для обработки маскированного полипептида IL-2. Мышей-опухоленосителей обрабатывают конструкцией,

альдеслейкином или другим контролем, а опухоли, ткани, такие как печень, легкое и селезенка, и кровь собирают в различные моменты времени после начальной дозы, например, через пять дней, семь дней, или через десять дней после начальной дозы. В некоторых экспериментах иммунные клетки выделяют из опухолей, тканей и крови и подвергают фенотипической оценке с помощью проточной цитометрии. В некоторых экспериментах выделенные иммунные клетки оценивают с использованием маркеров, представляющих интерес, таких как маркеры CD8⁺ Т-клеток, CD8⁺ Т-клеток памяти, активированных NK-клеток, CD4⁺ Т-клеток и CD4⁺ Treg-клеток.

[643] В некоторых исследованиях фенотип иммунных клеток, инфильтрирующих опухоли *in vivo*, оценивали с использованием следующего способа. Самок мышей C57BL/6 приобретали в Charles River Laboratories, и их возраст на момент начала исследования составлял 8-10 недель. Опухолевые клетки MC38 (5×10^5 на мышшь) вводили подкожно в правый бок каждой мыши. При достижении размера опухоли $\sim 100 \text{ мм}^3$ (0-й день) мыши получали однократную внутривенную дозу 2 мг/кг конструкции, представляющей интерес (например, немаскированной исходной полипептидной конструкции IL-2, маскированной полипептидной конструкции IL-2 или конструкции нерасщепляемого маскированного полипептида IL-2) в PBS. На 5-й день мышей умерщвляли путем асфиксии в CO₂ и собирали опухоли, печень, селезенку и кровь. Клеточные суспензии получали из селезенки путем механического разрушения и пропускания через сетчатый фильтр для клеток размером 40 мкм. Опухолевые ткани ферментативно переваривали с использованием реагентов набора для диссоциации опухолей Miltenyi (Miltenyi, номер в каталоге 130-096-730), и для стадий механической диссоциации использовали диссоциатор gentleMACS (Miltenyi). Эритроциты в селезенке, суспензии опухолевых клеток и кровь лизировали с использованием буфера АСК (№ в каталоге Gibco A10492). Клеточные суспензии окрашивали следующими антителами: CD45 (клон 30-F11, eBioscience), CD3 (клон 2C11, Biolegend), CD8 (клон 53-6.7, BD Biosciences), CD4 (клон RM-45, BD Biosciences), FOXP3 (MF-14, Biolegend), CD25 (3C7, Biolegend), CD44 (клон IM7, eBioscience) и NKp46 (29A1.4, eBioscience). Сбор данных осуществлялся на проточном цитометре MACSQuant Analyzer (Miltenyi), а данные анализировали с помощью FlowJo.

[644] Результаты исследований по изучению *in vivo* ответов процентов CD4, CD8, NK и Treg в селезенке, крови и опухоли, проведенных, как описано выше, с использованием конструкций АК032, АК081, АК111, АК167 и АК168, а также контроля IgG к RSV, изображены на Фиг. 25А-25L. АК111 и АК168 представляют собой иллюстративные маскированные полипептидные конструкции IL-2.

[645] Результаты исследований по изучению *in vivo* ответов процентов CD4, CD8, NK и Treg в селезенке, крови и опухоли, проведенных, как описано выше, с использованием конструкций АК167, АК168, АК191, АК197, АК203, АК209 и АК211, а также контроля IgG к RSV, изображены на Фиг. 26А-26L. АК168, АК191, АК197, АК203 и АК209 представляют собой иллюстративные маскированные полипептидные

конструкции IL-2, каждая из которых содержит различную расщепляемую пептидную последовательность в линкере, соединяющем полипептид IL-2 с доменом продления периода полужизни. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA по сравнению с нерасщепляемой конструкцией АК211.

[646] Результаты исследований по изучению *in vivo* ответов процентов CD4, CD8, NK и Treg в селезенке, крови и опухоли, проведенных, как описано выше, с использованием конструкций АК235, АК191, АК192, АК193, АК210, АК189, АК190 и АК211, изображены на Фиг. 27А-27L. АК191, АК192, АК193, АК210, АК189 и АК190 представляют собой иллюстративные маскированные полипептидные конструкции IL-2, каждая из которых содержит расщепляемую пептидную последовательность в линкере, соединяющем полипептид IL-2 с доменом продления периода полужизни. Линкерная последовательность также различается среди этих конструкций в зависимости от используемой линкерной последовательности. АК189, АК190 и АК210 содержат полипептид IL-2, имеющий мутацию С125А, а АК191, АК192 и АК193 содержат полипептид IL-2, имеющий мутации С125А, R38А, F42А, Y45А и E62А. Конструкция АК235 представляет собой немаскированную конструкцию, а конструкция АК211 содержит нерасщепляемую линкерную последовательность. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA по сравнению с нерасщепляемой конструкцией АК211.

[647] Результаты исследований по изучению *in vivo* активации Т-клеток в селезенке, крови и опухоли, проведенных, как описано выше, с использованием конструкций АК235, АК191, АК192, АК193, АК210, АК189, АК190 и АК211, как описано выше, изображены на Фиг. 28А-28I. Активацию Т-клеток измеряли в виде средней интенсивности флуоресценции (MFI) CD25 в CD8⁺ Т-клетках, CD4⁺ Т-клетках или Foxp3⁺ клетках в селезенке, крови и опухоли. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA по сравнению с нерасщепляемой конструкцией АК211.

Расщепление *in vivo*

[648] Оценивают расщепление *in vivo* маскированных цитокиновых конструкций (например, маскированных полипептидных конструкций IL-2 или маскированных полипептидных конструкций IL-15). В некоторых исследованиях для сравнения вводят контрольное антитело. В некоторых исследованиях расщепление *in vivo* оценивают с помощью введения конструкции, представляющей интерес, мыши и, после определенного периода времени, захвата человеческого IgG с последующим измерением уровней, например, человеческого IgG, CD122 и IL-2 или IL-15.

[649] В некоторых исследованиях по изучению *in vivo* расщепления маскированных полипептидных конструкций IL-2, уровни лекарственного средства (т.е., уровни введенной конструкции, включая побочные продукты расщепления) определяли с помощью ELISA с использованием антител к человеческому IgG (клон M1310G05, Biolegend) в качестве захватывающих антител и различных детектирующих антител.

Конъюгированные с HRP или биотином детектирующие антитела к человеческому IgG (ab97225, Abcam) или CD122 (клон 9A2, Ancell) и IL-2 (Poly5176, Biolegend) использовали для определения общего и нерасщепленного уровней лекарственного средства соответственно. Концентрации расщепленного и высвобожденного IL-2 рассчитывают путем вычитания концентрации нерасщепленного (т.е., интактного) лекарственного средства из общей концентрации. На Фиг. 29А-29D изображены результаты исследований по изучению расщепления *in vivo* иллюстративных маскированных полипептидных конструкций IL-2 АК168 (последовательность расщепляемого пептида: MPYDLYNP; SEQ ID NO: 96) и АК209 (последовательность расщепляемого пептида: VPLSLY; SEQ ID NO: 135). Конструкция АК167 представляет собой расщепляемую конструкцию немаскированного полипептида IL-2, которая содержит тот же полипептид IL-2, что и маскированная конструкция АК168. Как изображено на Фиг. 29В-29D, как маскированные (АК168 и АК209), так и немаскированные (АК167) конструкции эффективно расщеплялись, и обе расщепляемые пептидные последовательности были расщеплены. На Фиг. 29Е изображены результаты фармакокинетического исследования общей концентрации IgG в плазме крови (мкг/мл) для общих уровней конструкций АК167, АК168 и АК209, а также для уровней нерасщепленных форм каждой конструкции.

Эрадикация опухоли и ингибирование метастазирования

[650] Способность маскированных полипептидных конструкций IL-2 и маскированных полипептидных конструкций IL-15, полученных в Примере 1, способствовать эрадикации опухоли и ингибированию метастазирования оценивают *in vivo* с использованием мышиных моделей, таких как сингенные модели опухолей МС38, СТ26 и В16F10.

[651] Мышам подкожно имплантируют опухолевые клетки и позволяют опухолям вырастать до пальпируемых размеров. Мышей-опухоленосителей обрабатывают маскированными конструкциями IL-2 или маскированными конструкциями полипептида IL-15, и в ходе обработки измеряют объем опухоли. В некоторых экспериментах некоторых мышей обрабатывают контролями для сравнения. В некоторых экспериментах некоторых мышей обрабатывают альдеслейкином в качестве контроля для обработки маскированного полипептида IL-2. Объем опухоли периодически измеряют в течение курса обработки. В некоторых экспериментах также периодически измеряют массу тела в течение курса обработки. В некоторых экспериментах образцы плазмы крови получают в течение курса обработки и анализируют в отношении фармакокинетики, фармакодинамики, расщепления и маркеров крови, таких как маркеры CD8⁺ Т-клеток, CD8⁺ Т-клеток памяти, активированных NK-клеток, CD4⁺ Т-клеток и CD4⁺ Treg-клеток.

[652] Способность маскированных полипептидных конструкций IL-2 и маскированных полипептидных конструкций IL-15 ингибировать метастазирование также оценивают *in vivo* с использованием мышиных моделей, подходящих для исследований метастазирования, таких как модели сингенных опухолей СТ26 для оценки метастазирования в легкие. Мышам подкожно имплантируют опухолевые клетки. В

некоторых экспериментах опухолям дают возможность вырастать до обработки до пальпируемого размера. В некоторых экспериментах обработку начинают до того, как опухоль вырастет до пальпируемого размера. Мышей-опухоленосителей обрабатывают маскированными конструкциями IL-2 или маскированными конструкциями полипептида IL-15 и оценивают в отношении метастазирования опухолевых клеток в ткани, такие как легкие, печень и лимфатические узлы.

[653] В некоторых исследованиях модель сингенной опухоли использовали для оценки способности маскированных полипептидных конструкций IL-2 уменьшать объем опухоли в соответствии со следующим способом. Самок мышей C57BL/6 приобретали в Charles River Laboratories, и их возраст на момент начала исследования составлял 8-10 недель. Опухолевые клетки MC38 (5 x10⁵ клеток на мышшь) вводили подкожно в правый бок каждой мыши. При достижении размера опухоли ~ 125 мм³ (0-й день) мышшь рандомизировали для получения доз 2 мг/кг АК081, АК111, АК167 или АК168 или антитела к RSV в качестве контроля в PBS. Мышам вводили внутривентриально по 6 доз три раза в неделю. Объем опухоли рассчитывали (длина * (ширина²)/2) с помощью штангенциркуля, а массу тела регистрировали дважды в неделю. На Фиг. 33А и 33В изображены результаты исследования модели сингенной опухоли, в котором оценивали объем опухоли и массу тела в течение курса обработки. Как изображено на Фиг. 33А, обработка с использованием типичных полипептидных конструкций IL-2, включая маскированные конструкции АК111 и АК168, приводила к ингибированию роста опухоли в динамике по сравнению с контролем антителом к RSV. Как изображено на Фиг. 33В, при обработке мышшь маскированными конструкциями АК111 и АК168, в целом не наблюдали снижения массы тела.

Биоактивность у яванских макаков

[654] Биоактивность *in vivo* маскированных полипептидных конструкций IL-2 и маскированных полипептидных конструкций IL-15, полученных в Примере 1, оценивают *in vivo* у яванских макаков. Яванских макаков обрабатывают конструкциями и оценивают биоактивность, фармакокинетику и расщепление *in vivo*. В некоторых экспериментах некоторых макаков обрабатывают контролями для сравнения. В некоторых экспериментах некоторых макаков обрабатывают альдеслейкином в качестве контроля для обработки маскированного полипептида IL-2. В некоторых экспериментах макакам вводят различные дозы конструкции, альдеслейкина или другого контроля. Кровь собирают у макаков в различные моменты времени и затем оценивают в отношении определенных типов клеток, таких как CD8⁺ Т-клетки, CD8⁺ Т-клетки памяти, активированные NK-клетки, CD4⁺ Т-клетки и CD4⁺ Treg-клетки и/или маркеров, представляющих интерес, например, для анализа дозозависимости общих лимфоцитов Ki67⁺ и растворимого CD25. В некоторых экспериментах оценивают лонгитюдную кинетику пролиферации и экспансии определенных типов циркулирующих Т- и NK-клеток. В некоторых экспериментах фармакокинетик и расщепление маскированных полипептидных конструкций IL-2 и маскированных полипептидных конструкций IL-15 определяют с

помощью ELISA, PAGE и масс-спектрометрии.

[655] Для исследования профиля безопасности иллюстративных маскированных полипептидных конструкций IL-2 у отличных от человека приматов, проводят исследование диапазона доз в соответствии со следующим способом. Группы из 3 здоровых самцов яванских макак (*Macaca fascicularis*) случайным образом распределяют для получения однократной внутривенной болюсной дозы 2 мл/кг активируемых (т.е., расщепляемых) маскированных белков полипептида IL-2 или нерасщепляемых маскированных белков полипептида IL-2 в дозе 10, 30 и 100 нмоль/кг в 100 мМ цитратно-натриевого буфера (pH 5,5). Третья группа получает исходный немаскированный расщепляемый белок в дозе 3, 10 и 30 нмоль/кг в качестве положительного контроля. Эта третья группа получает препарат в более низком диапазоне в связи с более высокой активностью исходных немаскированных молекул. Дозы рассчитывают в молях с учетом различий в молекулярной массе. Образцы крови собирают перед введением препарата и через 1, 24, 48, 72, 96, 168, 264 и 336 часов после введения препарата. Автоматический гематологический анализатор используют для мониторинга изменений в субпопуляциях лимфоцитов и биохимическом составе сыворотки крови. Уровни общих и интактных (т.е., нерасщепленных) лекарственных средств измеряют в плазме крови с использованием индивидуализированного ELISA, как описано выше. Уровни растворимого CD25 измеряют с помощью ELISA (R&D systems, номер в каталоге DR2A00) для мониторинга иммунной стимуляции. Уровни воспалительных цитокинов в плазме крови определяют количественно с использованием индивидуализированного мультиплексного электрохемилюминесцентного анализа (Meso Scale Discovery). Артериальное давление контролируют в качестве показателя синдрома пропотевания жидкости через сосуды. РК анализируют с помощью ELISA, в котором захватывается IL-2 и обнаруживается Fc человека, и ELISA, в котором захватывается Fc человека и обнаруживается Fc человека.

[656] Настоящее изобретение не предназначено для ограничения объема конкретными раскрываемыми вариантами осуществления, которые представлены, например, для иллюстрации различных аспектов настоящего изобретения. Различные модификации композиций и способов, описанных в настоящем документе, станут очевидными из приведенного описания и идей настоящего документа. Такие варианты могут быть применены на практике без отклонения от фактического объема и сущности раскрытия, и предполагается, что они попадают в объем настоящего раскрытия.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

SEQ ID	АМИНОКИСЛОТНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKGYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
2	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKGYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSET

	TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
3	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKA TELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETT FMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
4	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTKKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
5	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFAFAMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETT FMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
6	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKA TELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
7	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTKKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
8	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNGAQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
9	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNS SHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASL PGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKM THGKTRWTQPQLICT
10	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCE LLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFK PFENLRLMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHT WEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQ
11	GGSSPPMPYDLYHPSGP
12	GSPMPYDLYHP
13	GSPMPYDLYHPSGP
14	GSPSMPYDLYHPSGP
15	GPPSGSSPMPYDLYHPSGGG
16	GSSGGPPGGMPYDLYHPSGGG
17	SGSPSGSGGGMPYDLYHPSGGG

52	GGGSSGGSG
53	GGGAGGS
54	GHS
55	GPS
56	GAS
57	SGG
58	SGGSGG
59	SSG
60	GGGSGG
61	GG
62	GGG
63	SHGG
64	HGGG
65	SGAA
66	SGPA
67	GGSGGS
68	GGSGGP
69	GGSGGG
70	GSGGPGPS
71	SGPPGSS
72	SSGGSGP
73	SSPSPSGG
74	SPGGSS
75	GGPGSSP
76	SGPPGGPSS
77	GPGPGSPPGGSS
78	SGPP
79	PGSPSSS
80	PSPGGPS
81	GGPPS
82	PSPPSS
83	SGGPGP
84	GPSPGS
85	GSPGPSP

86	PSSGGSS
87	SGSSGP
88	GGSSSPP
89	GSPGSP
90	PPPS
91	APPPS
92	AAPPPS
93	SAPPPS
94	SSGP
95	SSPGP
96	MPYDLYHP
97	GGIGQLTA
98	DLGRFQTF
99	DSGGFMLT
100	TSVLMAAP
101	TSEFVFAPDQ
102	KLVLPLVP
103	KPILFFRL
104	ANQLKG
105	QSQLKE
106	HEQLTV
107	PANLVAPDP
108	PAPGVYPGP
109	APAGLIVPYN
110	PQALVA
111	VGNLNF
112	VANLLYE
113	VYNLMD
114	TFNIKQ
115	DLWKLLP
116	PGSTKRA
117	QQYRALKS
118	YVPRAVL
119	GVNKWPT

120	LAQAVRSS
121	RAAAVKSP
122	DLLAVVAAS
123	VQTVTWD
124	AIPMSIPP
125	GYEVHHQK
126	VHHQKLVF
127	IRRVSYSF
128	MPYDLYHPILFFRL
129	GGIGQLTSVLMAAP
130	DSGGFMLTLVLPVLP
131	TSEFVFAPDLGRFQTF
132	TSTSGRSANPR
133	TSTSGRSANPG
134	TSTSGRSANPH
135	VPLSLY
136	TSASGASASAA
137	PSSPGGGSSP
138	ISSGLLSGRSDNH
139	ISSGLLSGRSDDH
140	ISSGLLSGRSDIH
141	ISSGLLSGRSDQH
142	ISSGLLSGRSDTH
143	ISSGLLSGRSANP
144	ISSGLLSGRSDNP
145	ISSGLLSGRSANPRG
146	AVGLLAPPGGLSGRSDNH
147	AVGLLAPPGGLSGRSDDH
148	AVGLLAPPGGLSGRSDIH
149	AVGLLAPPGGLSGRSDQH
150	AVGLLAPPGGLSGRSDTH
151	AVGLLAPPGGLSGRSANP
152	AVGLLAPPGGLSGRSDNP
153	AVGLLAPPSGRSANPRG

154	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
155	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
156	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
157	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSANSALSYMYWYQQKPDQSPKLWVHGT SNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHHWSNTQWTFGGG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
158	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTFTNYFMNWVRQAPGQGLEWM GRVDPEQGRADYAEKFKKRVITADKSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCAR RAMDNYGFAYWGQGLTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
159	MYRMQLLSIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
160	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT

161	CGGHQYERRGGC
162	CSGHQYERREGC
163	CGGHYFERHGGC
164	CSGHYFERHEGC
165	CSFHQYERHEGC
166	MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFI LGCFSAGLPKTEANWVN VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGD ASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS
167	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVIS LESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS
168	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
169	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
170	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDESTYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
171	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA KTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAQKQEPERN ECFLQHKDDNPNLPR LVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYF YAPELLF FAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQGLK CASLQK FGERAFKAWAV ARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICE

	NQDSISSKLLK ECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVGSKDVCCKNYAEAKDVF LGMFLYEYAR RHPDYSVLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQN LIKQNCSELF QLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKR MPCAEDCLSVF LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNGRPCFSALEVDETYVPKEFNAETF TFHADICTL SEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKE TCFAEEGKKLV AASQAALGL
172	LAEAKVLANRELDKYGVSDYYKNLINNAKTVEGVKALIDEILAALP
173	DICLPRWGCLW
174	RLIEDICLPRWGCLWEDD
175	DCAWHLGELVWCT
176	NKFRGKYK
177	NARKFYKG
178	FYWHCLDE
179	FYCHWALE
180	FYCHTIDE
181	AQQNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQLNDSQA PK
182	ADAQQNKFNKDQQSAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGE AKKLNESQAPK
183	ADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKK LNESQAPK
184	ADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKL NDAQAPK
185	ADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKDDPSVSKEILAEAKKL NDAQAPK
186	VDNKFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNAFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKL NDAQAPK
187	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVT

	VIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR EDWLGEADYGMDVWGQGTTVTVSS
188	DIVMTQTPLSSPVT LGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRL IYKISNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATQFPTFG QGTKVEIKR
189	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLS CAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVT VIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DGEQWRGFDYWGQGTTVTVSS
190	DIVMTQTPLSSPVT LGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRL IYKISNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATQFPTFG QGTKVEIKR
191	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLS CAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVT VIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DQEQR LAFDYWGQGTTVTVSS
192	DIVMTQTPLSSPVT LGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRL IYKISNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATQFPTFG QGTKVEIKR
193	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLS CAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVT VIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR GAVAGTGRDY YYYGMDVWGQGTTVTVSS
194	DIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSSQSLHSDGNTYLSWLQKPGQSPQLL IYLGSNRASGVPDRFSGSGAGTDFTLKLISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLT FGGGTKVEIKR
195	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLS CAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVT VIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR GSYYDSSGY YYGEDFDYWGQGTTVTVSS
196	DIVMTQTPLSSPVT LGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRL IYKISNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQTSQFPTFG QGTKVEIKR
197	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLS CAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVT VIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR EWELEDYGMDVWGQGTTVTVSS
198	DIVMTQTPLSSPVT LGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRL IYKISNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQTTQFPTFG

	QGTKVEIKR
199	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA VIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR EDFDSHYGMDVWGQGTTVTVSS
200	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRL IYKISNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQTTQFPTFG QGTKVEIKR
201	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVT VIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DNWGSDAFDIWGQGTTVTVSS
202	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRL IYKISNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQVTQFPTFG QGTKVEIKR
203	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVT VIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DDWFGEADYGMDVWGQGTTVTVSS
204	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRL IYKISNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQTTQFPTFG QGTKVEIKR
205	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVT VIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR RISITPFDYWGQGTTVTVSS
206	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA SSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPLTFGGGTK VEIKR
207	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWVG IYYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADK SISTA YLQWSSLKASDTAMYYCARQQ VAGMLDYWGQGTTVTVSS
208	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA SSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPLTFGGGTK VEIKR
209	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVT VIWYDGSNEY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DDFWS DYPFDYWGQGTTVTVSS

210	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRL IYKISNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQTTQFPTFG QGTKVEIKR
211	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVT VIWYDGSNEYYSADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR EEWFGEADYGMDVWGQGTTVTVSS
212	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRL IYKISNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQTTQFPTFG QGTKVEIKR
213	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVT VIWYDGSNEYYSADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR GAVAGTGRDY YYYGMDVWGQGTTVTVSS
214	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPA SISC R SSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLL IYLGSNRASGVPDRFSGSGS GTDFTLKLISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLT FGGGTKVEIKR
215	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVT VIWYDGSNEYYSADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR GSYYDSSGYYFGEDFDYWGQGTTVTVSS
216	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRL IYKISNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQVTQFPTFG QGTKVEIKR
217	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVT VIWYDGSNEYYSADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR GTVAGTGRDY YYYGMDVWGQGTTVTVSS
218	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPA SISC R SSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLL IYLGSNRASGVPDRFSGSGS GTDFTLKLISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLT FGGGTKVEIKR
219	EIVLTQSPGTL SLS PGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA SSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSSTFGQGTKL EISR
220	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMG IIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGG NWNCFDYWGQGT LTVTVSS
221	GMSLAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRW

	NQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMA IQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTL SPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLPDTQYEFQVRVKPLQAFRTLGH
222	QKLTTVDI
223	CQKLTTVDIC
224	SHYFER
225	CSHYFERC
226	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCE LLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDF
227	LNTTILTPNGNEDTTADFFLTTMPTDLSVSTLPLPEVQCFVFNVEYMNCT WNSSSEPQPTNLTLYHYWYKNSDNDKVQKCSHYLFSEEITSGCQLQKKEIH LYQTFVVQLQDPREPRRQATQMLKLQNLVIPWAPENLTLHKLSESQLELN WNNRFLN HCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVDIRHKFSL PSVDGQKRYTFRVRSRFNPLCGSAQHWSEW SHPIHWGSNTSKENPFLFALEAV
228	TLPLPEVQCFVFNVEYMNCTWNSSSEPQPTNLTLYHYWYKNSDNDKVQKC SHYLFSEEITSGCQLQKKEIHLQYTFVVQLQDPREPRRQATQMLKLQNLVI PWAPENLTLHKLSESQLELNWNNRFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSV DIRHKFSLPSVDGQKRYTFRVRSRFNPLCGSAQHWSEWSHPIHWGSNT
229	TLPLPEVQCFVFNVEYMNCTWNSSSEPQPTNLTLYHYWYKNSDNDKVQKC SHYLFSEEITSGCQLQKKEIHLQYTFVVQLQDPREPRRQATQMLKLQNLVI
230	SSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATEL KHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
231	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNS SHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASL PGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKM THGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQI QTEMAATMETS
232	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKAT NVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRAPP
233	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKAT NVAHWTTPSLKCIRDP
234	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKAT

	NVAHWTTPSLKCIR
235	SGGSGGGGSGGGSGGGGSLQ
236	SGRSA
237	SGRSANA
238	SGRNAQ
239	SGRNAQVR
240	SGRSDN
241	SGRSDNPN
242	GSGKSA
243	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
244	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
245	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKA TELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETT FMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
246	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTKKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
247	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFAFAMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETT FMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
248	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKA TELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
249	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTKKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
250	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
251	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA

	TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
252	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKEPEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLKPEDTAVYYCTIGGS LSRSSQGTQVTVSS
253	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKEPEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLKPEDTAVYYCTIGGS LSRSSQGTQVTVSS
254	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGLEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLKPEDTA VYYCTIGGSLRSRSGGTQVTVSS
255	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGLEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLKPEDTAVYYCTIGGS LSRSSQGTQVTVSS
256	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGLEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGS LSRSSQGTQVTVSS
257	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGS LSRSSQGTQVTVSS
258	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGS LSRSSQGTQVTVSS
259	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSS ISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGS LSRSSQGTQVTVSS
260	TSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATE LKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFM CEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
261	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCE LLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFK PFENLRMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHT WEEAPLLTLKQKQEWICLETLPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSQPL AFRTKPAALGKD

262	GSGPDSGGFMLTSGPAP
263	GSSPPGDSGGFMLTSGP
264	DSGGFMLTS
265	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
266	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSGPDSGGFMLTSGPAPT SSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAM PKKATELKHLCLEALPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKG SETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
267	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPGSGSAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQDQALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ KLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMLAPISLQVVHVETH RCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETL TPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWPWSQPLAFRTKPAALGKD
268	GSGP
269	GPAP
270	ISSGLLGGLSGRSDQP
271	ISSGLLSGRSDQG
272	ISSGLLSGRSDQA
273	ISSGLLSGRSDSP
274	ISSGLLSGRSDTP
275	ISSGLLSGRSDMP
276	ISSGLLSGRSD

277	ISSGLLSGRSDQP
278	ISSGLLGGLSGRSDNP
279	ISSGLLSSGGLSGRSDQP
280	ISSGLLSSGGLSGRSDNP
281	ISSGLLSGRS
282	ISSGLLSGRSESP
283	ISSGLLSGRSEQP
284	ISSGLLSGRSEQH
285	LSSGLLSGRSDQP
286	LSSGLLGGLSGRSDQP
287	LSSGLLSGRSDQG
288	LSSGLLSGRSDQA
289	LSSGLLSGRSDSP
290	LSSGLLSGRSDTP
291	LSSGLLSGRSDMP
292	LSSGLLSGRSD
293	GKQLRVVNEYSSMDNMLLG
294	LSSGLLGGLSGRSDNP
295	LSSGLLSSGGLSGRSDQP
296	LSSGLLSSGGLSGRSDNP
297	GKQLRVVNEYSSDNMLLG
298	LSSGLLSGRSESP
299	LSSGLLSGRSEQP
300	LSSGLLSGRSEQH
301	MPYDLYH
302	LSGRSDNH
303	GGGSSP
304	SGGP
305	SGPSGSPG
306	GSIPVSLRSG
307	GPSGPAGLKGAPG
308	GPPGPAGMKGLPG
309	GYVADAPK
310	KKLADEPE

311	GGSRPAHLRDSGK
312	SFTQARVVGG
313	VHMPLGFLGPRQARVVN
314	LSGRSDNHSPLGLAGS
315	VPLSLYSG
316	IPESLRAG
317	IPVSLRSG
318	SGSGGSPVPLSLYSGGP
319	GGSSPVPLSLYSGGP
320	GGSSPPVPLSLYSGPSGSPG
321	GGSGGGSGGGSGGGSGGGSG
322	GGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG
323	PGPGP
324	SGGCGGHQYERRGGC
325	SGGCSGHQYERREGC
326	SGGCGGHYFERHGGC
327	SGGCSGHYFERHEGC
328	SGGCSFHQYERHEGC
329	PSGSS
330	GSPG
331	GGSPGG
332	GGPGGP
333	GGSG
334	GSPPGG
335	GPGSPG
336	GSSPPG
337	GGP
338	SGPGSGS
339	GGSSPPGGGSSGGGSGP
340	SGPGSGS
341	SGSGGSP
342	IYDQKT
343	AHNYKT
344	MMDQAN

345	MLGEFVSE
346	GLVALRGA
347	KEHKYKAE
348	GGSSPPGGGSSGGGSGPGSGS
349	GGSSPPVPLSLYSGPGSGS
350	GNPMGSEPVNFKQLRVVNGGP
351	GNPMGSEPVNFKLLRVVNGGP
352	GNPMGSDPVNFKQLRVVNGGP
353	GNPMGSDPVNFKLLRVVNGGP
354	GGSSPPMPYDLYHPSGSPGSPG
355	GGSSPPGGGSSGGGSGPSGSPG
356	RQARVVG
357	LGGSGRSNAQVRLE
358	LGGSGRKASLSLE
359	SGRIGFLRTA
360	SGAIGFLRTA
361	RPARSGRSAGGSVA
362	VTGRGDSPASS
363	PRFKIIGG
364	LSGRIGFLRTA
365	LSGRSNAMPYDLYHP
366	LSGRSNAGGIGQLTA
367	LSGRSNVPLSLY
368	LSGRSNADSGGFMLT
369	LSGRSNAHEQLTA
370	LSGRSNARAAVKSP
371	LSGRSNATSVLMAAP
372	VPLSLYLSGRSNA
373	DSGGFMLTSLGRSNA
374	GGIGQLTALSGRSNA
375	MPYDLYHPLSGRSNA
376	HEQLTVLSGRSNA
377	RAAAVKSPLSGRSNA
378	TSVLMAAPLSGRSNA

379	IPVSLRSGRSNAQRLE
380	VPLSLYRQARVVG
381	DSGGFMLTRQARVVG
382	GGIGQLTARQARVVG
383	MPYDLYHPRQARVVG
384	HEQLTVRQARVVG
385	RAAAVKSPRQARVVG
386	TSVLMAPRQARVVG
387	KQLRVVNEYSSMDNMLLG
388	KQLRVVNEYSSSEDNMLLG
389	KQLRVVNGYSSSEDNMLLG
390	KQLRVVGGLVHLKNTMET
391	TRDRLDEVNFKQLRVVNG
392	TRDRLDEVNFKLLRVVNG
393	TRDRLDPVNFKQLRVVNG
394	TRDRLDPVNFKLLRVVNG
395	NPMGSEPVNFKQLRVVNG
396	NPMGSEPVNFKLLRVVNG
397	NPMGSDPVNFKQLRVVNG
398	NPMGSDPVNFKLLRVVNG
399	TYSRSKYLATA
400	TYSRSRYLATA
401	KQLRVVNEYSSE
402	KQLRVVNGYSSE
403	KQLRVVGGLVAL
404	KQLRVVNGLVAL
405	SPGRVVGGLVAL
406	PQPRTYSRSRYL
407	PQPRTTSRSRYL
408	VVNEYSSSRGPYH
409	VVNEYSSSERGPYH
410	NKVSMSSSRGPYH
411	NKVMSSTRGPYH
412	APAMMRGSVILTV

413	APAMMEGSVILTV
414	RGSVIITVQTVTW
415	RGSVILTVQTVTW
416	GTRDRLDEVNFKQLRVVNGGP
417	GTRDRLDEVNFKLLRVVNGGP
418	GTRDRLDPVNFKQLRVVNGGP
419	GTRDRLDPVNFKLLRVVNGGP
420	RK GKALAA YRLE
421	RK GKAGAA YRLE
422	RQARVVGGLVAL
423	GGVRGPRFKIIGG
424	GGVRGPRVKIIGG
425	VTGRGD SHSLTTN
426	VTGRGDSPSLTTN
427	TGHGQASQGLLDR
428	TGHGQASSGLLDR
429	KQLRVVNENLENY
430	KQLRVVNGNLENY
431	SNVNDVANYNFF
432	SNVNDVSNYNFF
433	IDFNAAQNLYEK
434	IDFNAAYNLYEK
435	IQWNAGQPLQER
436	IQWNA PQPLQER
437	SMDNRLLGLFGE
438	SMDNMLLGLFGE
439	VPIDDPQDLLEG
440	VPIDDPEDLLEG
441	IPENLPPGLPLT
442	IPENLPPLLPLT
443	QPPSLTKNQVSL
444	QPPSLTRNQVSL
445	DSHSLTKNQVSL
446	DSHSLTTNQVSL

447	KAIQLTKNQVSL
448	KAIQLTYNQVSL
449	AEPWTRNTDGS
450	AEPWTVRNTDGS
451	KQLRVVNG
452	KQLRVVTGRGDSP
453	KQLRVVNGRGDSP
454	PSSRRRVVRKGV
455	PSSRRRVNRKGV
456	SPGRVVTGRGDSP
457	SPGRVVGGRGDSP
458	NSGRAVTGRGDSP
459	NSGRAVTYRGDSP
460	TGHGQPSSRRRVN
461	TGHGQASSRRRVN
462	TGHGQSSSRGPYH
463	TGHGQASSRGPYH
464	RGSVILTKNQVSL
465	RGSVILTVNQVSL
466	SPGRVVGINYWLA
467	SPGRVVGNYWLA
468	SPGRVVGSNKGAI
469	SPGRVVGNGKAI
470	PGARGRAPNHAVV
471	PGARGRAFNHAVV
472	PGARGNAFNLDLDR
473	PGARGRAFNLDR
474	VSNKYISNNEQLP
475	VSNKYFSNNEQLP
476	KVSNKALHVTNI
477	KVSNKALPVTNI
478	VTGRGSPDVPLT
479	VTGRGDSPDVPLT
480	TGHGQRSSNIRTS

481	TGHGQASSNIRTS
482	TGHGQHSSNIANI
483	TGHGQASSNIANI
484	TGHGQASRNDYSY
485	TGHGQASSNDYSY
486	KALHVTNRNTDGS
487	KALHVTNINTDGS
488	RVVRKKVSNKALP
489	RVVRKGVSNKALP
490	RQARVVGINYWLA
491	RQARVVGGNYWLA
492	GKQLRVVNGYSSDNMLLGGP
493	GKQLRVVGGGLVHLKNTMETGP
494	AGQPKQLRVVNG
495	AGQPLQLRVVNG
496	AGQPLQERVVNG
497	AGQPKQERVVNG
498	GTANKQLRVVNG
499	GTANKQLHVVNG
500	GTANIQLRVVNG
501	GTANIQLHVVNG
502	GKQLRVVNEYSSMDNMLLGGP
503	GKQLRVVNEYSSDNMLLGGP
504	KQLRTVAGLAGK
505	KQLRTVNGLAGK
506	KQLRVVAGLAGK
507	KQLRVVNGLAGK
508	GIKYKQLRVVNG
509	GIKYKYLRVVNG
510	GIKYLQLRVVNG
511	GIKYLYLRVVNG
512	THLDLTYSRSKYLATA
513	THLDLTPSRSKYLATA
514	THLDLTYSRSRYLATA

515	THLDLTPSRSRYLATA
516	TYSRSKYLAPANGNAE
517	TYSRSKYLATANGNAE
518	TYSRSRYLAPANGNAE
519	TYSRSRYLATANGNAE
520	DPVNFKQLRVVNEYSSE
521	DPVNFKQLRVVNGYSSE
522	DPVNFKKLRVVNEYSSE
523	DPVNFKKLRVVNGYSSE
524	RKGKAGAAKNLNEKDY
525	RKGKAGAAKNLYEKDY
526	RKGKAGAAQNLNEKDY
527	RKGKAGAAQNLYEKDY
528	VTGRGDHSLTKNQVSL
529	VTGRGDHSLTTNQVSL
530	VTGRGDSPSLTKNQVSL
531	VTGRGDSPSLTTNQVSL
532	TGHGQASSERSSNIRTS
533	TGHGQASSERSSNSRTS
534	TGHGQASSERSSTIRTS
535	TGHGQASSERSSTSRTS
536	GISSGLLSGRSDQPSGP
537	GGSGISSGLLSGRSDQPSGP
538	DPVNFKLLRVVNEYSSE
539	DPVNFKLLRVVNGYSSE
540	DPVNFKQLRVVGGGLVAL
541	DPVNFKQLRVVNGGLVAL
542	DPVNFKLLRVVGGGLVAL
543	DPVNFKLLRVVNGGLVAL
544	KQLRVQNGDSTE
545	KQLRVVNNDATE
546	KQLRVVNGDSTE
547	ISNNKQLRVVNG
548	ISNNKQLPVVNG

	VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
559	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTA MLTAKFAMPKKATEL KHLQCLEEAL KPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLT
560	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTKKFYMPKKATEL KHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLT
561	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFAFAMPKKATEL KHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLT
562	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEY ADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTPSGPSAGGAAEIVLTQSPDFQSV TPKEKVTITCSANSALSYMYWYQQKPDQSPKLWVHGTSNLASGVPSRFSG SGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHHWSNTQWTFGGGTKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

563	<p>ELCDDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNS SHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASL PGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKM THGKTRWTQPQLICTGGPPASAGSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG YTFTNYFMNWVRQAPGQGLEWMGRVDPEQGRADYAEKFKKRVTTITADK STSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARRAMDNYGFAYWGQGLTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
564	<p>ELCDDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNS SHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASL PGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKM THGKTRWTQPQLICTGSPPAGGAPQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG YTFTNYFMNWVRQAPGQGLEWMGRVDPEQGRADYAEKFKKRVTTITADK STSTAYMELSSLRSEDТАVYYCARRAMDNYGFAYWGQGLTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
565	<p>APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTGPGSGSGGAAEIVLTQSPDFQSV TPKEKVTITCSANSALSYMYWYQQKPDQSPKLWVHGTSNLASGVPSRFSG SGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHHWSNTQWTFGGGKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
566	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK</p>

	<p>CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTGPPSGSSPMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDGA LQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLT TVDI VTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLR LMAPISLQVVHVETHRCNISWE ISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDTQY EFQVRVKPLQ</p>
<p>567</p>	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG TMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQV TPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVV GQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGGGGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLD LQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWI TFAQSIISTLTGPPSGSSPMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQDGA LQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ KLT TVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLR LMAPISLQVVHVETH RCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETL TPDTQYEFQVRVKPLQ</p>
<p>568</p>	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKA TELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSK NFHFDPDRDVVSNINVFVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFAQSI ISTLT</p>
<p>569</p>	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE</p>

	<p>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTKKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSI ISTLT</p>
570	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNGAQSK NFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSI ISTLT</p>
571	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG TMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQV TPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVV GQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYK NPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
572	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG TMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQV TPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVV GQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNG</p>

	<p>INNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIST LT</p>
573	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG TMLNCECKRGRFRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQV TPQPREEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVV GQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGGGGSGG GGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNL AQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLT</p>
574	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG TMLNCECKRGRFRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQV TPQPREEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVV GQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGGGGSGG GGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEH LLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFAQSIISTLT</p>
575	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG TMLNCECKRGRFRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQV TPQPREEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVV GQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGGGGGGG</p>

	<p>GGGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLD LQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFAQSIISTLT</p>
576	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGPAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG TMLNCECKRGRFRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQV TPQPTEEKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVV GQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYK NPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHFD RDVVSNINVFVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
577	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGPAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG TMLNCECKRGRFRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQV TPQPTEEKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVV GQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNG INNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHFDPRDVVSNINVFVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLT</p>
578	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGPAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG TMLNCECKRGRFRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQV TPQPTEEKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVV GQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGGGGSGG</p>

	GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNL AQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWIT FAQSIISTLT
579	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG TMLNCECKRGRFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCCTSSATRNTTKQV TPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVV GQMVIYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEH LLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFAQSIISTLT
580	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTGGGGSGGGGSELCDDDPPEIPH ATFKAMAYKEGTMLNCECKRGRFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQC TSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWE NEATERIYHFVVGQMVIYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQP QLICTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
581	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSE LCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGRFRRIKSGSLYMLCTGNSS HSSWDNQCQCCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLP GHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVIYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMT HGKTRWTQPQLICTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT

	<p>VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
582	<p>APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSELCD DDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSS WDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGH CREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHG KTRWTQPQLICTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
583	<p>APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTGGGGSGGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
584	<p>APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSET TFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL</p>

	YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
585	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTGSSGGPPGGMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDG ALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTV DIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNIS WEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDT QYEFQVRVKPLQ
586	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTSGSPSGSGGGMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTT VDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNIS WEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDT QYEFQVRVKPLQ
587	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTGPPGPPGSSGMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTT VDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNIS

	WEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDT QYEFQVRVKPLQ
588	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTGSSSGPPGPPSMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTT VDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNIS WEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDT QYEFQVRVKPLQ
589	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTGSSGGPPGGMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDG ALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTV DIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNIS WEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDT QYEFQVRVKPLQ
590	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTSGSPSGSGGGMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTT

	VDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVETHRCNIS WEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDT QYEFQVRVKPLQ
591	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTGPPGPPGSSGMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTT VDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVETHRCNIS WEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDT QYEFQVRVKPLQ
592	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTGSSSGPPGPPSMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTT VDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVETHRCNIS WEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDT QYEFQVRVKPLQ
593	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSK NFHFDPRDVVSNINVVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSI ISTLTGPPSGSSPMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDG

	ALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTV DIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVETHRCNIS WEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDT QYEFQVRVKPLQ
594	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSK NFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSI ISTLTGSSGGPPGGMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTT VDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVETHRCNIS WEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDT QYEFQVRVKPLQ
595	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSK NFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSI ISTLTSGSPSGGGGMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQ DGALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTT TVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVETHRCNI SWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPD TQYEFQVRVKPLQ
596	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSK NFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSI

	CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG TMLNCECKRGRFRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQV TPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVV GQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGGGGGGG GGGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLD LQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKGETTFMCEYADETATIVEFLNRWI TFAQSIISTLTSGSPSGSGGGMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANIS CVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAP DSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLR LMAPISLQVVHV ETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWIC LETLTPDTQYEFQVRVKPLQ
600	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG TMLNCECKRGRFRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQV TPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVV GQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTGGGGGGG GGGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLD LQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKGETTFMCEYADETATIVEFLNRWI TFAQSIISTLTGPPGPPGSSGMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANIS CVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAP DSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLR LMAPISLQVVHV ETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWIC LETLTPDTQYEFQVRVKPLQ
601	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEG

	FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSPMPYDLYHPAPTSSSTKKTQLQLE HLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEF LNRWITFAQSIISTLT
605	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKKTQ LQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETAT IVEFLNRWITFAQSIISTLT
606	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKKTQ LQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETAT IVEFLNRWITFAQSIISTLT
607	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSI ISTLT
608	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCL

	EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
609	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPGSGSAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQDGA LQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ KLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETH RCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETL TPDTQYEFQVRVKPLQ
610	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTGPPSGSSPMYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDGA LQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDI VTLRVLCREGVRWRVMAIQDF
611	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTGSSGGPPGMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDG ALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTV DIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDF
612	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN

	VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTSGSPSGSGGGMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTT VDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDF
613	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTGPPGPPGSSGMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTT VDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDF
614	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTGSSSGPPGPPSMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTT VDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDF
615	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLT
616	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE

	VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
617	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGPPSGSSPMYDLYHPSGGGAVNGT SQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVS QASWACNLILGAPDSQKLT TVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENL RLMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEA PLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQ
618	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLTCLVEGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQESLSLSPGAPTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGI NNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFAQSIISTL T
619	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKCLTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
620	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKCLTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGPPSGSSPMYDLYHPSGGGAVNGT SQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVS QASWACNLILGAPDSQKLT TVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENL RLMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEA PLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQ

621	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLVSDLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLT
622	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
623	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGPPSGSSPMYDLYHPSGGGAVNGT SQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCCELLPVS QASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENL RLMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEA PLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQ
624	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVEGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQESLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGI NNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTL T
625	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKKTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

626	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKKLTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGPPSGSSPMPYDLYHPSGGGA VNG TSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPV SQASWACNLILGAPDSQKLT TVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFEN LRLMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEE APLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQ
627	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELEKGETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTPGPGMPYDLYHPSGGCGGHQYERRGGC
628	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELEKGETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTPGPGMPYDLYHPSGGCSGHQYERREGC
629	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELEKGETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTPGPGMPYDLYHPSGGCGGHYFERHGGC
630	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK

	<p>CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTPGPGMPYDLYHPSGGCSGHYFERHEGC</p>
631	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTPGPGMPYDLYHPSGGCSFHQYERHEGC</p>
632	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTPSGSSMPYDLYHPSGGCGGHQYERRGGC</p>
633	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTPSGSSMPYDLYHPSGGCSGHQYERREGC</p>
634	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN</p>

	GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTPSGSSMPYDLYHPSGGCGGHYFERHGGC
635	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTPSGSSMPYDLYHPSGGCSGHYFERHEGC
636	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTPSGSSMPYDLYHPSGGCSFHQYERHEGC
637	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPGSGSAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ KLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETH RCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETL TPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWPWSQPLAFRTKPAALGKD
638	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGPPSGSSMPYDLYHPSGGGAVNGT SQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVS QASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENL

	<p>RLMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEA PLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTK PAALGKD</p>
639	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKCLTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGPPSGSSPMPYDLYHPSGGGAVNGT SQFTCFYNSRANISCVWSQDGalQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVS QASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENL RLMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEA PLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTK PAALGKD</p>
640	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLSKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGPPSGSSPMPYDLYHPSGGGAVNGT SQFTCFYNSRANISCVWSQDGalQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVS QASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENL RLMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEA PLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTK PAALGKD</p>
641	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKCLTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGPPSGSSPMPYDLYHPSGGGAVNG TSQFTCFYNSRANISCVWSQDGalQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPV SQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFEN LRLMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEE APLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRT KPAALGKD</p>
642	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK</p>

	<p>CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLTGPPSGSSPMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDGA LQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDI VTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNISWE ISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDTQY EFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKD</p>
643	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILN GINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSK NFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSI ISTLTGPPSGSSPMPYDLYHPSGGGAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDG ALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTV DIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNIS WEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDT QYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKD</p>
644	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPGSGSAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQDGAALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ KLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETH RCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETL TPDTQYEFQVRVKPLQ</p>
645	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN</p>

	VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEILCLLLQMILN GILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT
646	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEILLLLLQMILNG ILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFIQSIIST LT
647	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEILCLFLQMILNG ILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIST LT
648	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEILLFLQMILNG ILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFIQSIIST LT
649	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLCLLLQMILN GILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS

	TLT
650	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLLLQMILN GILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFIQSIIS TLT
651	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEILLLLLQMILNG ILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIST LT
652	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEILLLFLQMILNG ILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIST LT
653	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLLLQMILN GILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLT
654	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK

	<p>CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLCLFLQMILN GILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT</p>
655	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLFLQMILN GILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFIQSIIS TLT</p>
656	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEHLLLFLQMILN GILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIS TLT</p>
657	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEILCLLLQMILN GINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPRDLISNINVIVLELELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT</p>
658	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEILLLLLQMILNG</p>

	<p>INNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFIQSIIST LT</p>
659	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEILLLLQMLNG INNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIST LT</p>
660	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEILCLFLQMLNG INNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIIST LT</p>
661	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEILLFLQMLNG INNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFIQSIIST LT</p>
662	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAPTSSSTKKTQLQLEILLFLQMLNG INNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIST LT</p>

663	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLVSDLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCL EELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
664	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLSKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPGSGAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ KLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRRLMAPISLQVVHVETH RCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETL TPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKD
665	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVEGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQESLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSTKKT QLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFAQSIISTLT
666	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKCLTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPGSGAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ KLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRRLMAPISLQVVHVETH RCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETL TPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKD
667	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE

	VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKA TELKHLQCL EEALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
668	GGSSPPMPYDLYHPSGPGSGS
669	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKA TELKHLQCL EEALKPLEEVLNLAQSKNFHFDPRDVVSNINVFVLELKGSETTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
670	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCL EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
671	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPGSGAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ KLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLR LMAPISLQVVHVETH RCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETL TPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKD
672	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK

	<p>CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGISSGLLSGRSDNHSGPAPTSSSTKKT QLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
673	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGAVGLLAPPGGLSGRSDNHSGPAP TSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATEL KHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
674	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSPGVPLSLYSGPAPTSSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLT</p>
675	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPVPLSLYSGPAPTSSSTKKTQL QLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
676	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSPGGVPLSLYSGPAPTSSSTKKTQ</p>

	LQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETAT IVEFLNRWITFAQSIISTLT
677	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPRAAAVKSPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCL EELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
678	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGPGGPRAAAVKSPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCL EELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
679	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSGRAAAVKSPSGPAPTSSSTKKTQ LQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETAT IVEFLNRWITFAQSIISTLT
680	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPRAAAVKSPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCL EEALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT

681	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGPGGPRAAAVKSPSPGAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCL EEALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
682	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSGHEQLTVSGPAPTSSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLT
683	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPHEQLTVSGPAPTSSSTKKTQ LQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETAT IVEFLNRWITFAQSIISTLT
684	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSPGGHEQLTVSGPAPTSSSTKKTQ LQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETAT IVEFLNRWITFAQSIISTLT
685	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG

	FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSGHEQLTVSGPAPTSSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEAL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLT
686	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPHEQLTVSGPAPTSSSTKKTQ LQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETAT IVEFLNRWITFAQSIISTLT
687	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSPGGHEQLTVSGPAPTSSSTKKTQ LQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETAT IVEFLNRWITFAQSIISTLT
688	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSGPDSGGFMLTSGPAPTSSSTKKTQ LQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETAT IVEFLNRWITFAQSIISTLT
689	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGPGSPGDSGGFMLTSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCL

	EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKLGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
690	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSSPPGDSGGFMLTSGPAPTSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKKATELKHLQCL EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKLGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
691	GISSGLLSGRSDNHGGP
692	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGPGSPGDSGGFMLTSGPAPTSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCL EEALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKLGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
693	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSSPPGDSGGFMLTSGPAPTSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCL EEALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKLGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
694	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGISSGLLSGRSDNHSGPAPTSSTKKT QLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLE EALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKLGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT

695	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGAVGLLAPPGGLSGRSDNHS GPAP TSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATE LKHLQCLEEALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFM CEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
696	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSPGGVPLSLYSGPAPTSSSTKKTQ LQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETAT IVEFLNRWITFAQSIISTLT
697	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSPGVPLSLYSGPAPTSSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEAL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLT
698	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSGRAAAVKSPSGPAPTSSSTKKTQ LQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETAT IVEFLNRWITFAQSIISTLT
699	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG

	FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPGGGSSGGGSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKA TELKHLQCL EEALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKLGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
700	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPGGGSSGGGSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKKA TELKHLQCL EELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKLGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
701	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKKA TELKHLQCL EERLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKLGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
702	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTEKIFYMPKKA TELKHLQCL EELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKLGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
703	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFNMPKKA TELKHLQCL

	EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKLGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
704	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCL EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKLGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
705	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKLGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
706	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFRMPKKATELKHLQCL EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKLGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
707	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFAFYMPKKATELKHLQCL EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELEKLGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
708	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE

	<p>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFAMPKKATELKHLQCL EESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
709	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELKHLQCL EESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
710	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTGMLTFKFAMPKKATELKHLQCL EESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
711	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPVPLSLYSGPAPTSSSTKKTQL QLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEA LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
712	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN</p>

	VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPGSGAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ KLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETH RCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETL TPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKD
713	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGISSGLLSGRSDNHGGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCL EELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
714	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGISSGLLSGRSDNHGGPAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCL EEALKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
715	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPGSGSNWVN VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGD ASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS
716	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGPPSGSSPPMPYDLYHPSGGGAVNGT SQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVS

	<p>QASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENL RLMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEA PLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTK PAALGKD</p>
717	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSPGVPLSLYSGPAPTSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEERL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLT</p>
718	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSPGVPLSLYSGPAPTSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTEKFYMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLT</p>
719	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSPGVPLSLYSGPAPTSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEESL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLT</p>
720	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSPGVPLSLYSGPAPTSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV</p>

	EFLNRWITFAQSIISTLT
721	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLTCLVEGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQESLSLSPG
722	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSPGVPLSLYSGPAPTSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFRMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLT
723	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSPGVPLSLYSGPAPTSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELKHLQCLEESL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLT
724	GISSGLLSGRSDNPSGP
725	GGSGISSGLLSGRSDNPSGP
726	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGSPGVPLSLYSGPAPTSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEAL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLT
727	SGS
728	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE

	<p>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSGRAAAVKSPSGPAPTSSSTKKTQ LQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELKHLQCLEE SLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETAT IVEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
729	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGISSGLLSGRSSGPAPTSSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELKHLQCLEESL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFAQSIISTLT</p>
730	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSGISSGLLSGRSSGPAPTSSSTKKT QLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELKHLQCLE ESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
731	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGISSGLLSGRSDNPSGPAPTSSSTKKT QLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELKHLQCLE ESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
732	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN</p>

	VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSGISSGLLSGRSDNPSGPAPTSSST KKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELKHLQ CLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
733	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGISSGLLSGRSDQPSGPAPTSSSTKKT QLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELKHLQCLE ESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFAQSIISTLT
734	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSGISSGLLSGRSDQPSGPAPTSSST KKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELKHLQ CLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
735	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGKQLRVVNEYSSMDNMLLGGPAPT SSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATEL KHLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
736	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGKQLRVVNEYSSDNMLLGGPAPTS SSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELK HLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE

	YADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
737	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGKQLRVVNGYSSDNMLLGGPAPTS SSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELK HLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
738	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGKQLRVVGGVLVHLKNTMETGPAPTS SSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELK HLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
739	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGTRDRLDEVNFKQLRVVNGGPAPTS SSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELK HLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
740	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGTRDRLDEVNFKLLRVVNGGPAPTS SSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELK HLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
741	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK

	<p>CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGTRDRDPVNFKQLRVVNGGPAPTS SSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELK HLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
742	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGTRDRDPVNFKLLRVVNGGPAPTS SSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELK HLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
743	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGNPMGSEPVNFKQLRVVNGGPAPTS SSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELK HLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
744	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGNPMGSEPVNFKLLRVVNGGPAPTS SSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELK HLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT</p>
745	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGNPMGSDPVNFKQLRVVNGGPAPTS</p>

	SSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELK HLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
746	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGNPMGSDPVNFKLLRVVNGGPAPTS SSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKATELK HLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE YADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
747	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGSPSGPNWV NVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESG DASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS
748	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPGGGSSGGGSGPSGSPGNWV NVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESG DASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS
749	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGSPSGPNWV NVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESG DASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSR

	ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPA PPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSP STGTTEISSHESHGTPSQTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT
750	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPGSGPGNWV NVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESG DASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYR ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPA PPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAAS
751	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPGGGSSGGGSGPGSGSNWVN VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGD ASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS
752	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPGSGSNWVN VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGD ASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYR ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPA PPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSP STGTTEISSHESHGTPSQTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT
753	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG

	<p>FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPMPYDLYHPSGPGSGSNWVN VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGD ASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSITCPPMSVEHADIWVKSYSLSYR ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPA PPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAAS</p>
<p>754</p>	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPVPLSLYSGPGSGSNWVNVIS DLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASI HDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFI NTS</p>
<p>755</p>	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPGSGSAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ KLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMLAPISLQVVHVETH RCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETL TPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWPWSQPLAFRTKPAALGKDPGGPSPVPLS LYSGGPITCPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECV LNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPA PPSGGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQ VISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQ SFVHIVQMFINTS</p>
<p>756</p>	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPGSGSAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ</p>

	<p>KLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETH RCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETL TPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKDSGSGGSPVP LSLYSGGPITCPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTE CVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAAPSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLE LQVISLESGDASIHDVTENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEF LQSFVHIVQMFINTS</p>
757	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPGSGSAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ KLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETH RCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETL TPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKDGGGSSPVPL SLYSGGPITCPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTEC VLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAAPSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLEL QVISLESGDASIHDVTENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFL QSFVHIVQMFINTS</p>
758	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPVPLSLYSGPSGSPGNWVNVI SDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDAS IHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFI NTSGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGITCPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYI CNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAAPPST VTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTG TTEISSHESHGTPSQTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT</p>
759	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK</p>

	<p>CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPVPLSLYSGPGSGSPGNWVNVI SDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDAS IHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFI NTSGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYS RERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQR APPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGSQLMPSK SPSTGTTEISSHESHGTPSQTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDDT</p>
760	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPVPLSLYSGPGSGSNWVNVIS DLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASI HDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFI NTSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSITCPPPMSVEHADIWVKSYSLY SRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQR PAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAAS</p>
761	<p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSSPPVPLSLYSGPGSGSNWVNVIS DLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASI HDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFI NTSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSITCPPPMSVEHADIWVKSYSLY SRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQR PAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGSQLMPS KSPSTGTTEISSHESHGTPSQTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDDT</p>
762	PGPGPMPYDLYHPSGGCGGHQYERRGGC
763	PGPGPMPYDLYHPSGGCSGHQYERREGC
764	PGPGPMPYDLYHPSGGCGGHYFERHGGC
765	PGPGPMPYDLYHPSGGCSGHYFERHEGC

766	PGPGMPYDLYHPSGGCSFHQYERHEGC
767	PSGSSMPYDLYHPSGGCGGHQYERRGGC
768	PSGSSMPYDLYHPSGGCSGHQYERREGC
769	PSGSSMPYDLYHPSGGCGGHYFERHGGC
770	PSGSSMPYDLYHPSGGCSGHYFERHEGC
771	PSGSSMPYDLYHPSGGCSFHQYERHEGC
772	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKCLTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
773	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKELTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
774	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKCLTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
775	APTSSSTKKTQLQLEILCLLQMLNGILNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
776	APTSSSTKKTQLQLEILLLLQMLNGILNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFIQSIISTLT
777	APTSSSTKKTQLQLEILCLFLQMLNGILNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
778	APTSSSTKKTQLQLEILLFLQMLNGILNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKKATE LKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFM CEYADETATIVEFLNRWITFIQSIISTLT
779	APTSSSTKKTQLQLEHLCLLQMLNGILNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKKAT

	ELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
780	APTSSSTKKTQLQLEHLLLLLQMILNGILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFIQSIISTLT
781	APTSSSTKKTQLQLEILLLLLQMILNGILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
782	APTSSSTKKTQLQLEILLFLQMILNGILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATE LKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFM CEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
783	APTSSSTKKTQLQLEHLLLLLQMILNGILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
784	APTSSSTKKTQLQLEHLCLFLQMILNGILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
785	APTSSSTKKTQLQLEHLLLFLQMILNGILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFIQSIISTLT
786	APTSSSTKKTQLQLEHLLLFLQMILNGILNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
787	APTSSSTKKTQLQLEILCLLLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
788	APTSSSTKKTQLQLEILLLLLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFIQSIISTLT
789	APTSSSTKKTQLQLEILLLLLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
790	APTSSSTKKTQLQLEILCLFLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF

	MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
791	APTSSSTKKTQLQLEILLFLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKAT ELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFIQSIISTLT
792	APTSSSTKKTQLQLEILLFLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKAT ELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
793	DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLVSDLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
794	SG
795	PGSG
796	DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVEGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQESLSLSPG
797	GISSGLLSGRSSGP
798	GGSGISSGLLSGRSSGP
799	GSG
800	GISSGLLSGRSDNHSGP
801	GGAVGLLAPPGGLSGRSDNHSGP
802	GSPGVPLSLYSGP
803	GGSSPPVPLSLYSGP
804	GGSPGGVPLSLYSGP
805	GGSSPPRAAAVKSPSGP
806	GGPGGPRAAAVKSPSGP
807	GGSGRAAAVKSPSGP
808	GGSGHEQLTVSGP
809	GGSSPPHEQLTVSGP
810	GSPPGGHEQLTVSGP
811	GSGPDSGGFMLTSGP

812	GPGSPGDSGGFMLTSGP
813	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTSKFYMPKKA TELKHLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
814	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTGMLTFKFAMPKKA TELKHLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
815	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEERLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETT FMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
816	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTEKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
817	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFNMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
818	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKA TELKHLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
819	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
820	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFRMPKKA ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
821	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFAFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
822	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFAMPKKA TELKHLQCLEESLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT
823	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKAT NVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASS PSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTSPSQTAKNWEL

	TASASHQPPGVYPQGHSDTT
824	ITCPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKAT NVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAAS
825	ITCPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKAT NVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAPPS
826	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCE LLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFK PFENLRLMAPISLQVVHVETHRSNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHT WEEAPLLTLKQKQEWISLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPL AFRTKPAALGKD
827	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCE LLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFK PFENLRLMAPISLQVVHVETHRSNISWEISQASHYFEDHLEFEARTLSPGHT WEEAPLLTLKWKQEWISLATLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPL AFRTKPAALGKD
828	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPGSGSAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQDQALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ KLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVETH RSNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWISLETL TPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKD
829	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPGSGSAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQDQALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ KLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRLMAPISLQVVHVETH RSNISWEISQASHYFEDHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKWKQEWISLAT LTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKD
830	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE

VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGPGSGSAVNGTSQFTCFYNSRANISCV WSQD GALQDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQ KLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMLAPISLQVVHVETH RSNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWISLETL TPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKD

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Маскированный цитокин, содержащий:

a) маскирующий фрагмент; и

b) цитокин или его функциональный фрагмент,

причем маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством первого линкера.

2. Маскированный цитокин, содержащий:

a) первый маскирующий фрагмент;

b) цитокин или его функциональный фрагмент,

причем первый маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством первого линкера; и

c) второй маскирующий фрагмент,

причем второй маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом посредством второго линкера.

3. Маскированный цитокин, содержащий:

a) первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни;

b) маскирующий фрагмент; и

c) цитокин или его функциональный фрагмент,

причем маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни,

причем цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни, и

причем первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни.

4. Маскированный цитокин, содержащий:

a) первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни;

b) первый маскирующий фрагмент и второй маскирующий фрагмент; и

c) цитокин или его функциональный фрагмент,

причем первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни,

причем второй маскирующий фрагмент связан с цитокином или его функциональным фрагментом,

причем либо второй маскирующий фрагмент, либо цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни, и

причем первый домен продления периода полужизни и второй домен продления периода полужизни содержат модификации, способствующие ассоциации первого и второго домена продления периода полужизни.

5. Маскированный цитокин по п.1, дополнительно содержащий домен продления периода полужизни, который связан либо с маскирующим фрагментом, либо с цитокином или его функциональным фрагментом.

6. Маскированный цитокин по п.2, дополнительно содержащий домен продления периода полужизни, который связан либо с первым маскирующим фрагментом, либо со вторым маскирующим фрагментом.

7. Маскированный цитокин по п.3, в котором маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера; и/или в котором цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера.

8. Маскированный цитокин по п.4, в котором:

а) первый маскирующий фрагмент связан с первым доменом продления периода полужизни посредством первого линкера; и/или

б) либо второй маскирующий фрагмент, либо цитокин или его функциональный фрагмент связан со вторым доменом продления периода полужизни посредством второго линкера.

9. Маскированный цитокин по любому из пп. 1-8, в котором цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент.

10. Маскированный цитокин по п.9, в котором полипептид IL-2 или его функциональный фрагмент содержит:

а) аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-8, 160, 230, 243-251, 260, 775-792 и 813-822; или

б) аминокислотную последовательность, полученную путем введения одной или более из следующих аминокислотных замен в любую из SEQ ID NO: 1-8, 160, 243-251, 260, 775-792 и 813-822: H16I, L18C, D20A, D20L, D20F, N29L, R38A, F42A, F42K, F42E, F43A, Y45A, Y45N, Y45R, E62A, E62R, E62S, L72G, L80F, R81D, L85V, I86V, I92F и C125S.

11. Маскированный цитокин по любому из пп. 1, 3, 5, 7, 9 и 10, в котором маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 10, 161-165, 187-218, 221-229, 231 и 261.

12. Маскированный цитокин по любому из пп. 2, 4, 6 и 8-10, в котором первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 10, 161-165, 187-218, 221-229, 231 и 261, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 10, 161-165, 187-218, 221-229, 231 и 261, и причем аминокислотная последовательность первого маскирующего фрагмента и аминокислотная последовательность второго маскирующего фрагмента являются разными.

13. Маскированный цитокин по любому из пп. 1-8, в котором цитокин или его функциональный фрагмент представляет собой полипептид IL-15 или его

функциональный фрагмент.

14. Маскированный цитокин по п.13, в котором полипептид IL-15 или его функциональный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167.

15. Маскированный цитокин по любому из пп. 1, 3, 5, 7, 13 и 14, в котором маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229, 232-234, 261 и 823-825.

16. Маскированный цитокин по любому из пп. 2, 4, 6, 8, 13 и 14, в котором:

a) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229 и 261;

b) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229 и 261, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825;

c) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или нескольких из следующих аминокислотных замен в аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825: R24A, R26A, K34A, S40A, L42A и P67A, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229 и 261; или

d) первый маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 161-165, 219-229 и 261, и второй маскирующий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, полученную с помощью введения одной или более из следующих аминокислотных замен в аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 232-234 и 823-825: R24A, R26A, K34A, S40A, L42A и P67A.

17. Маскированный цитокин по любому из пп. 5, 6 и 9-16, причем домен продления периода полужизни представляет собой антитело или его фрагмент.

18. Маскированный цитокин по п.17, в котором антитело или его фрагмент представляет собой домен кристаллизующегося фрагмента (Fc-домен) или его фрагмент.

19. Маскированный цитокин по п.18, в котором Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154.

20. Маскированный цитокин по любому из пп. 3, 4 и 7-19, в котором первый домен продления периода полужизни представляет собой первое антитело или его фрагмент, и второй домен продления периода полужизни представляет собой второе антитело или его фрагмент.

21. Маскированный цитокин по п.20, в котором первое антитело или его фрагмент представляет собой первый Fc-домен или его фрагмент, и второе антитело или его

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 721;

n) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 721, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 772;

o) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 772, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 721;

p) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 793, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 622;

q) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 622, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 793;

r) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 793, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 773;

s) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 773, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 793;

t) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625;

u) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796;

v) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156;

w) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625; или

x) первый Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625, и второй Fc-домен или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 796.

23. Маскированный цитокин по любому из пп. 1, 5 и 9-22, в котором первый линкер содержит первый расщепляемый пептид.

24. Маскированный цитокин по п.23, в котором первый расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

25. Маскированный цитокин по любому из пп. 1, 5 и 9-24, в котором первый линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812.

26. Маскированный цитокин по любому из пп. 2 и 7-22, в котором первый линкер содержит первый расщепляемый пептид, и/или второй линкер содержит второй расщепляемый пептид.

27. Маскированный цитокин по п.26, в котором первый расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555, и/или второй расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 96-153, 236-242, 264, 270-302, 306-317, 342-347, 356-415, 420-491, 494-501, 504-535 и 538-555.

28. Маскированный цитокин по любому из пп. 2, 7-22, 26 и 27, в котором первый линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812, и/или второй линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-153, 235-242, 262-264, 268-320, 323-338, 340-354, 356-555, 668, 691, 724, 725, 727, 762-771, 794 и 797-812.

29. Нуклеиновая кислота, кодирующая маскированный цитокин по любому из пп. 1-28.

30. Вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по п.29.

31. Клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту по п.29.

32. Способ получения маскированного цитокина, включающий культивирование клетки-хозяина по п.31 в условиях, которые приводят к образованию маскированного цитокина.

33. Композиция, содержащая маскированный цитокин по любому из пп. 1-28.

34. Фармацевтическая композиция, содержащая маскированный цитокин по любому из пп. 1-28, и фармацевтически приемлемый носитель.

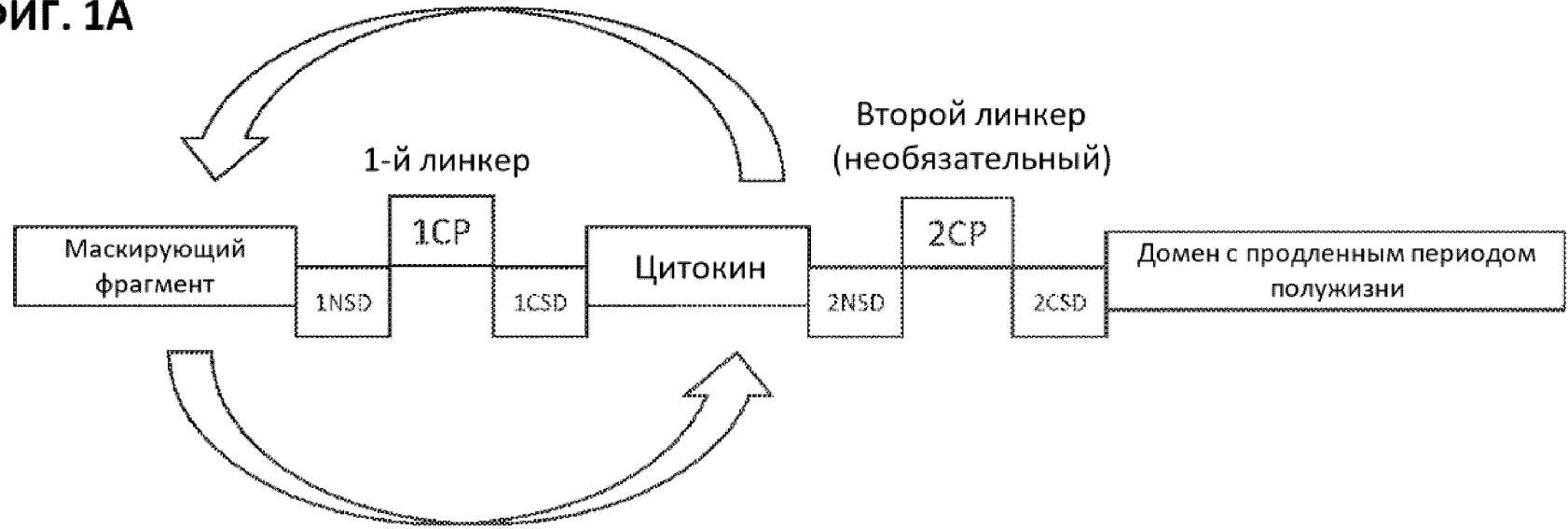
35. Набор, содержащий маскированный цитокин по любому из пп. 1-28 или композицию по п.33, или фармацевтическую композицию по п.34.

36. Способ лечения или профилактики неопластического заболевания у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества маскированного цитокина по любому из пп. 1-28 или композиции по п.33, или фармацевтической композиции по п.34.

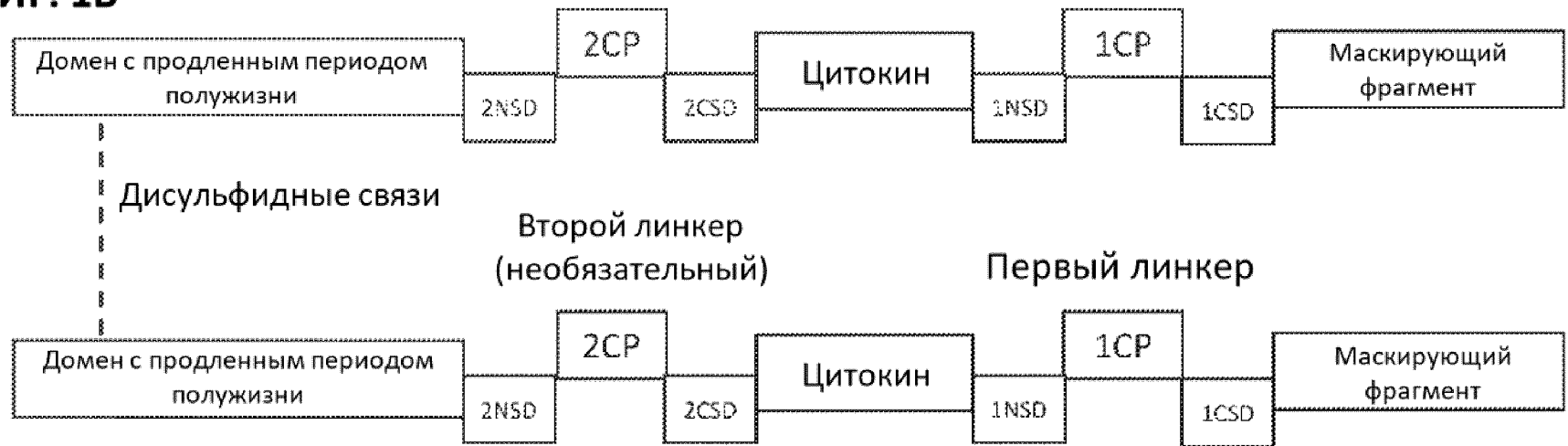
37. Способ лечения или профилактики воспалительного или аутоиммунного заболевания у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества маскированного цитокина по любому из пп.1-28 или композиции по п.33, или фармацевтической композиции по п.34.

По доверенности

ФИГ. 1А



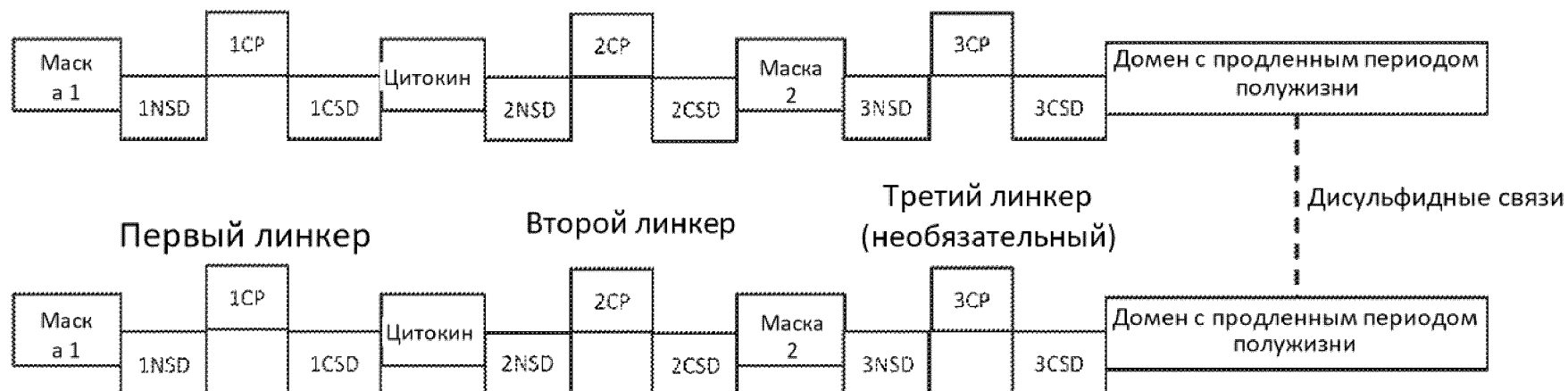
ФИГ. 1В

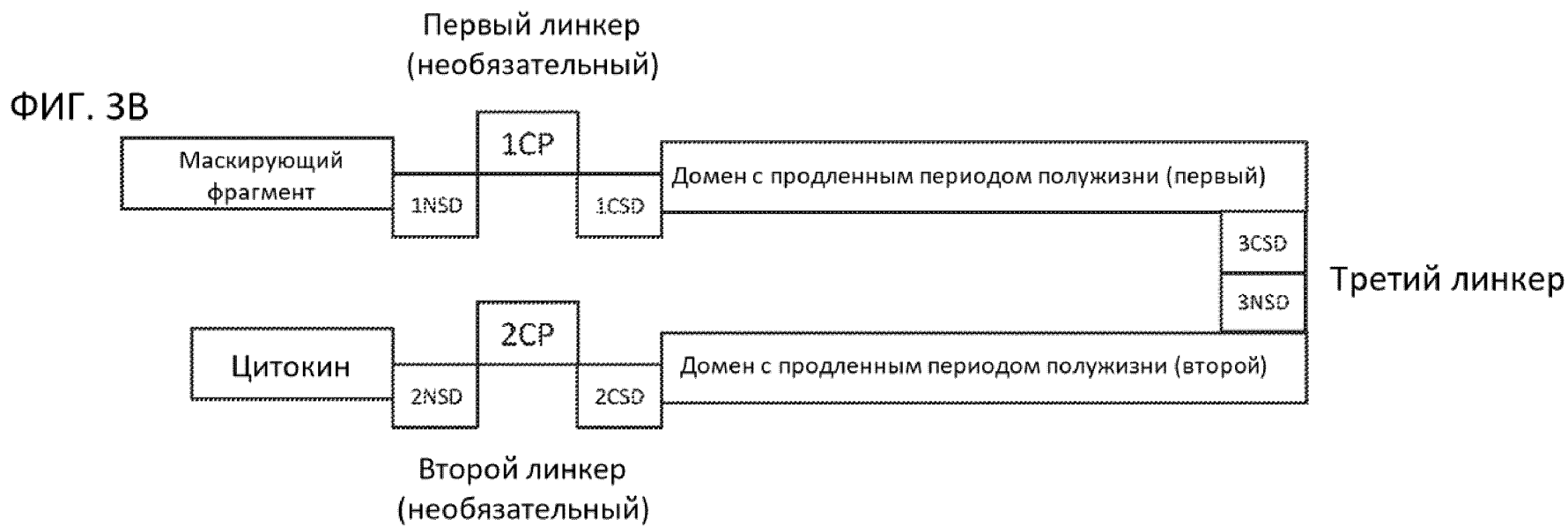
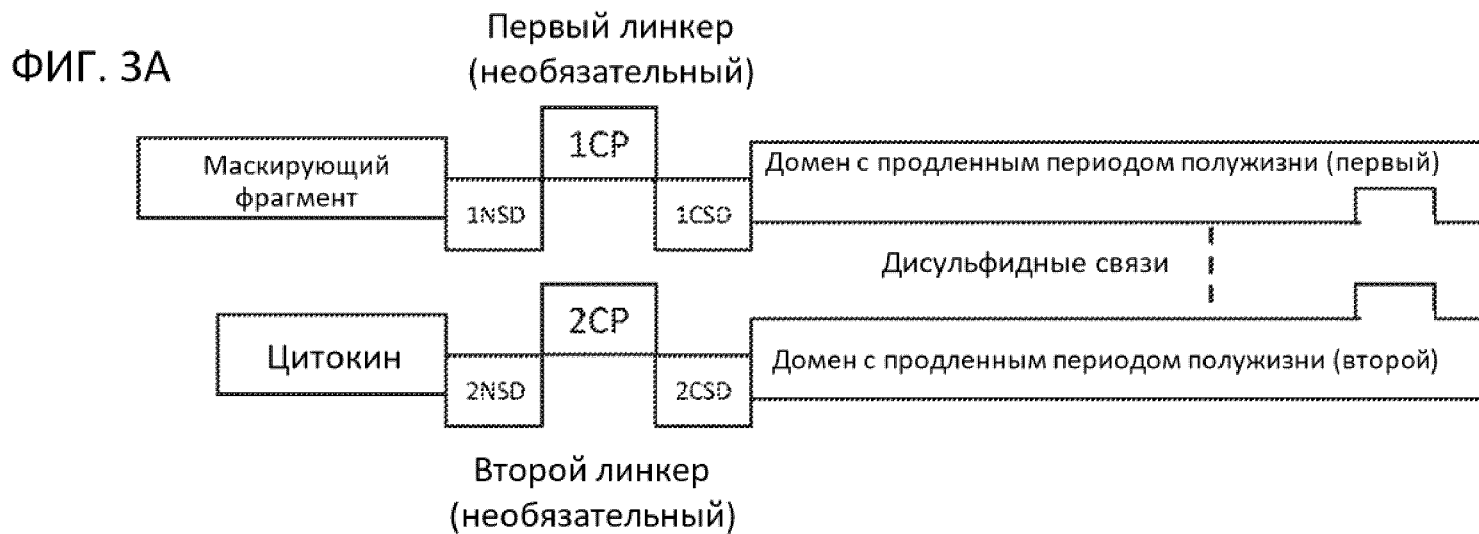


ФИГ. 2А

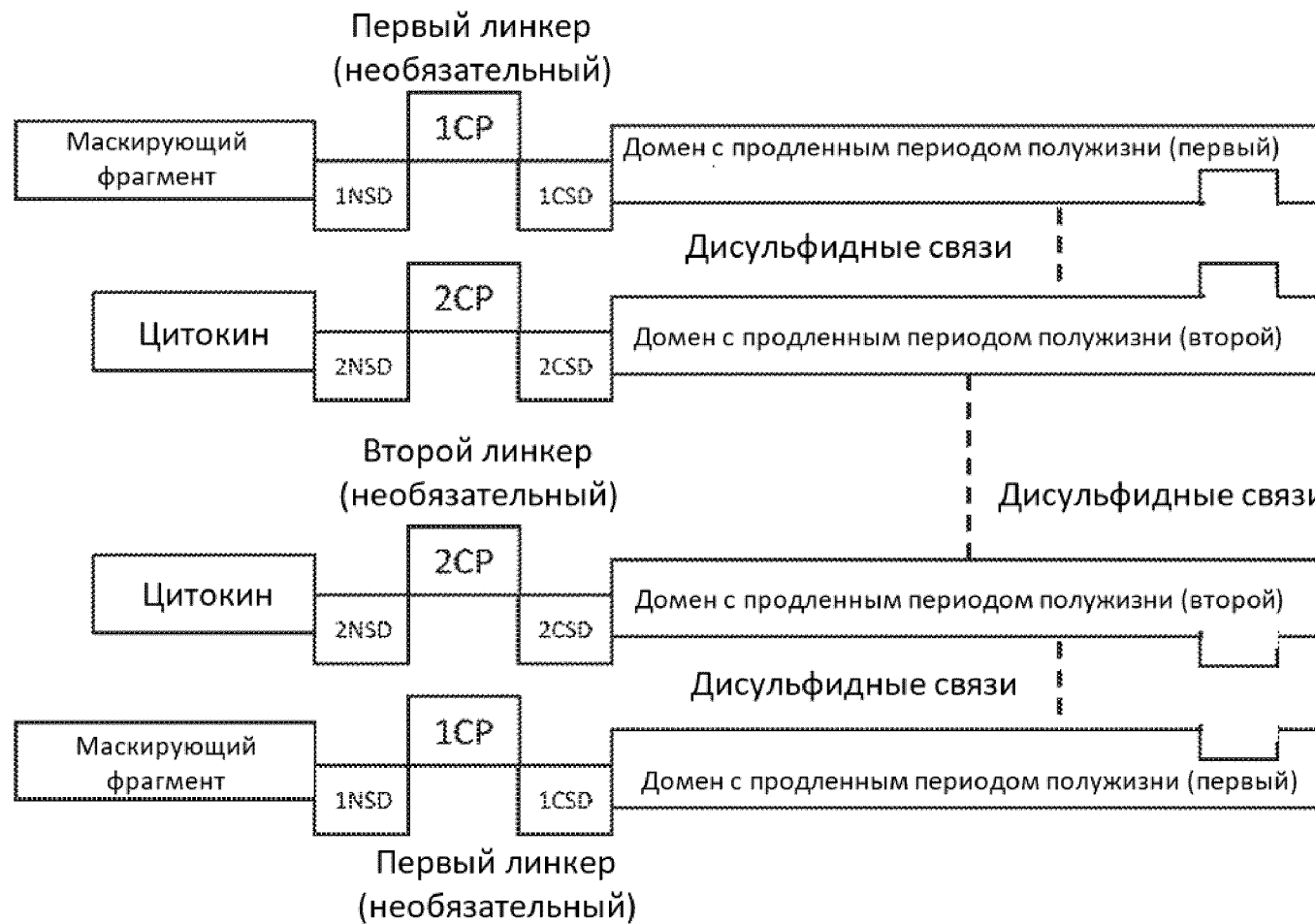


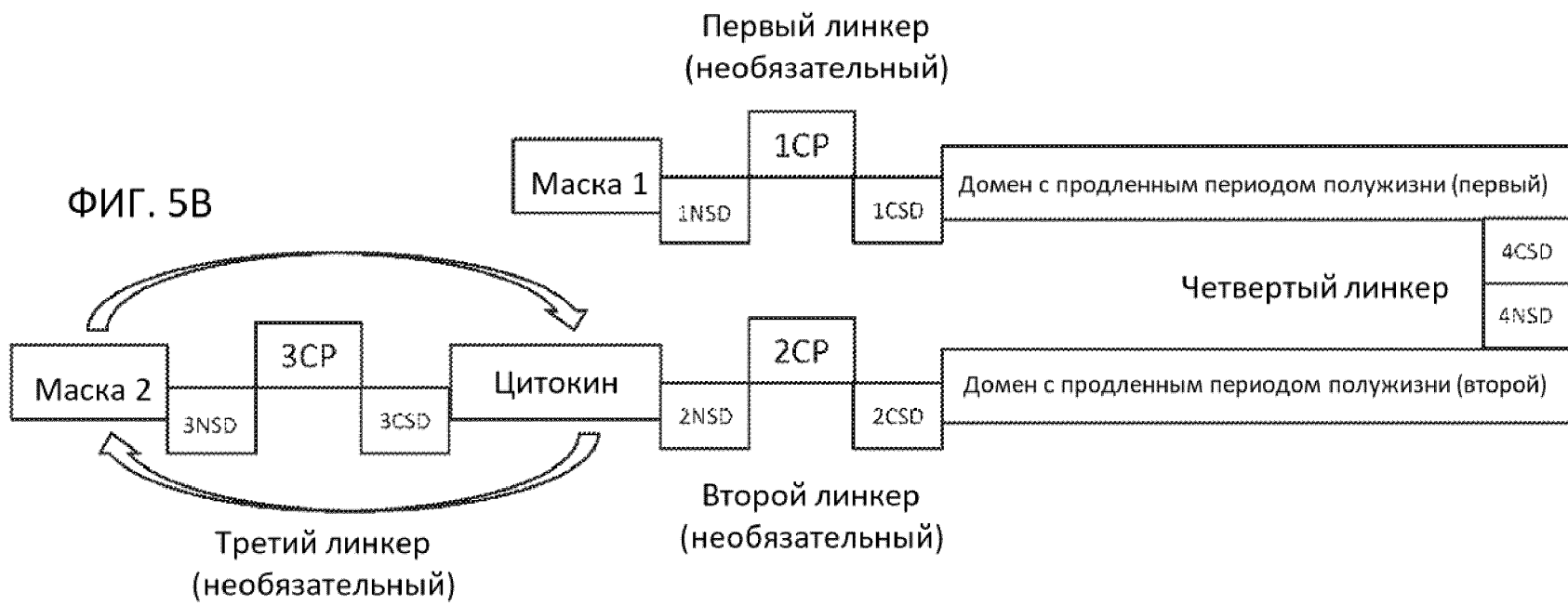
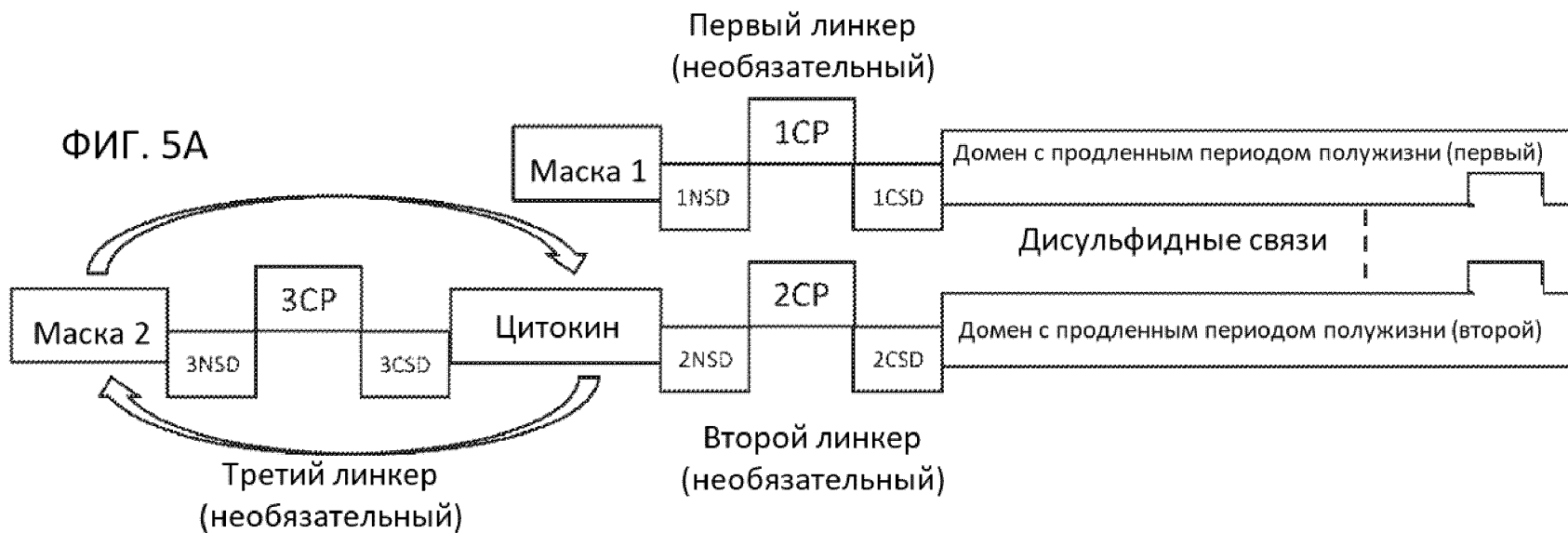
ФИГ. 2В



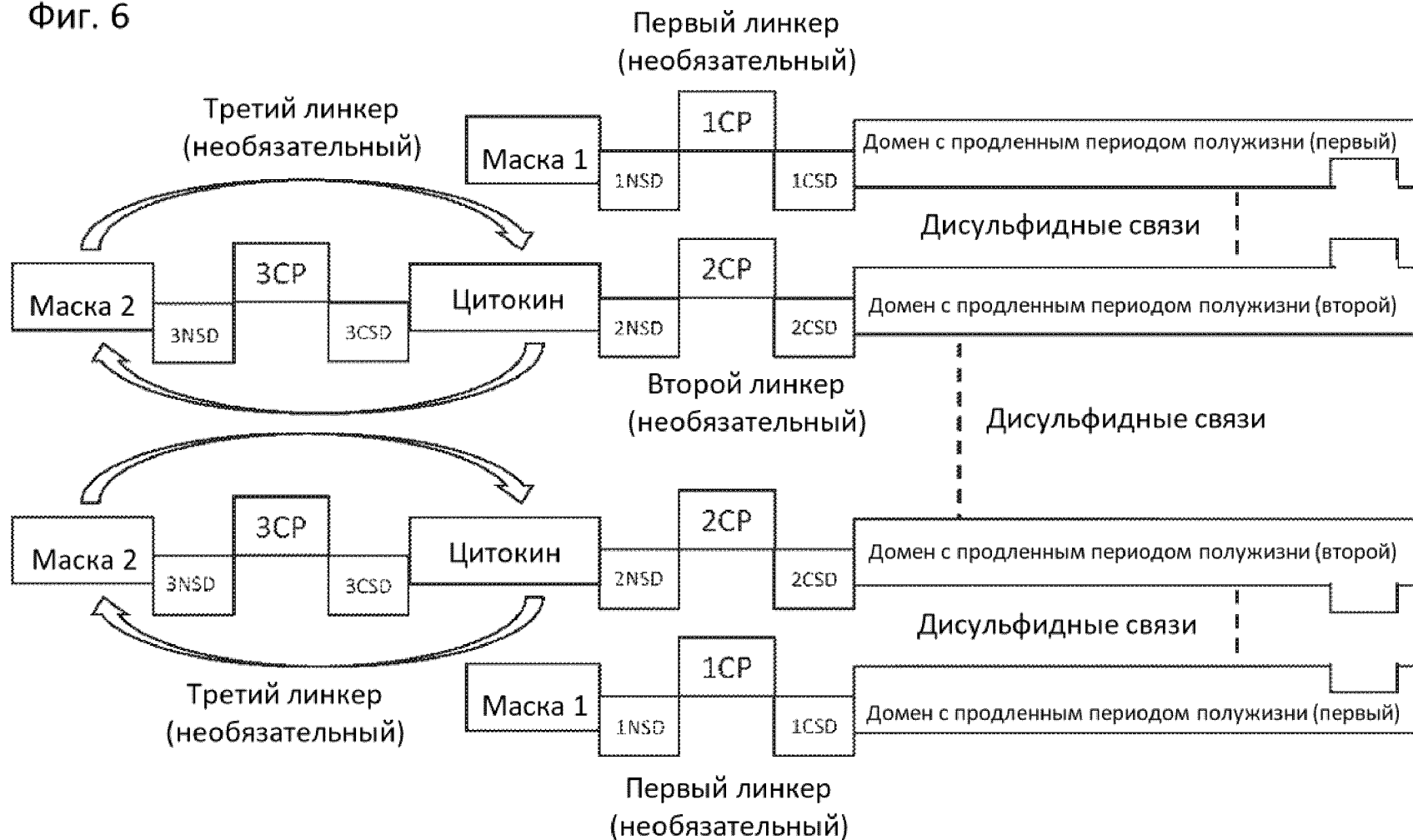


Фиг. 4

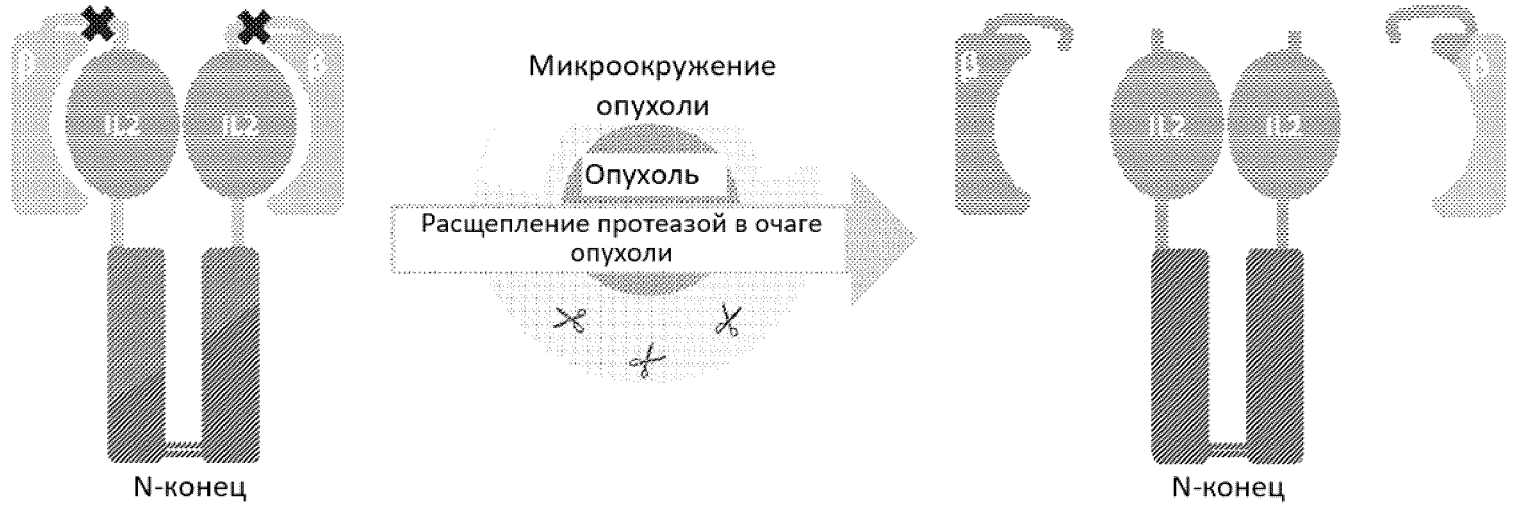




Фиг. 6



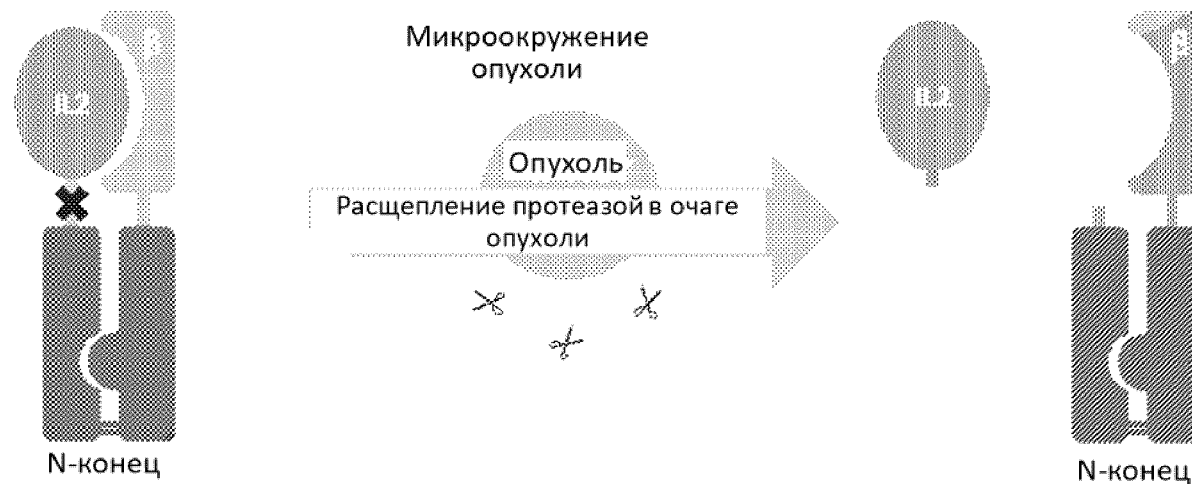
ФИГ. 7А



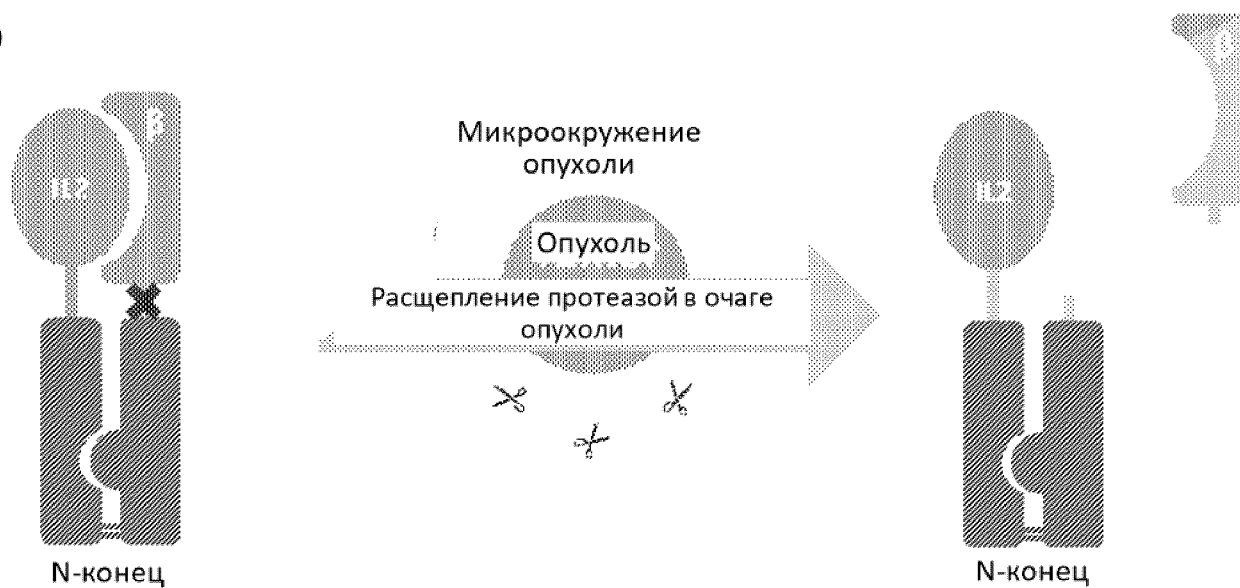
ФИГ. 7В



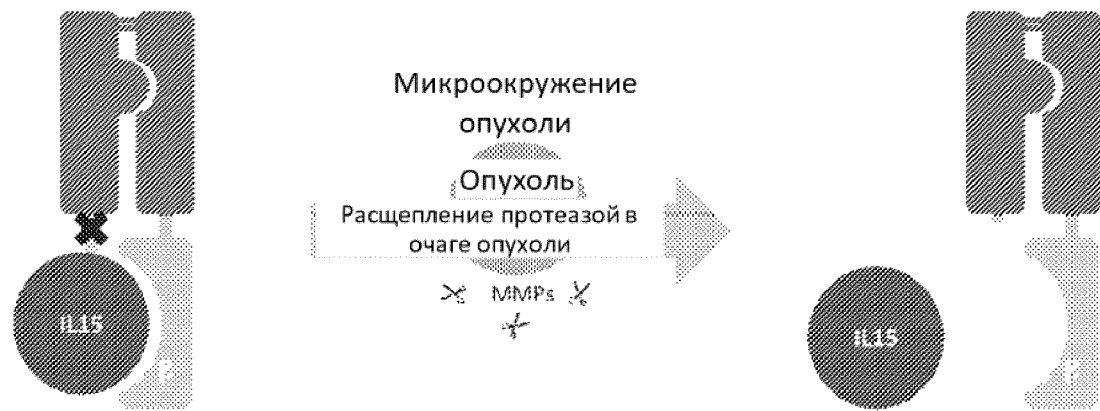
ФИГ. 7С



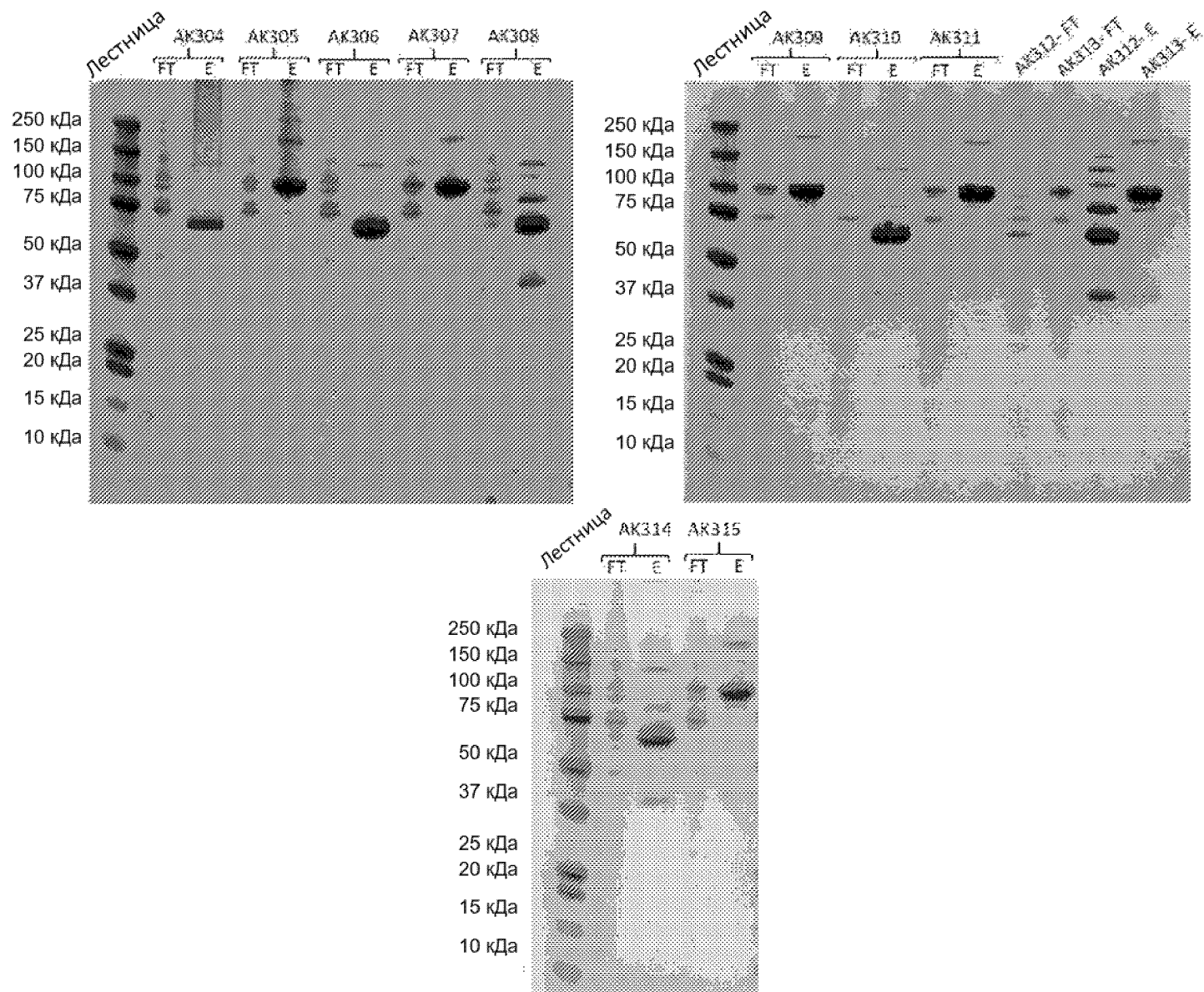
ФИГ. 7D



ФИГ. 7Е

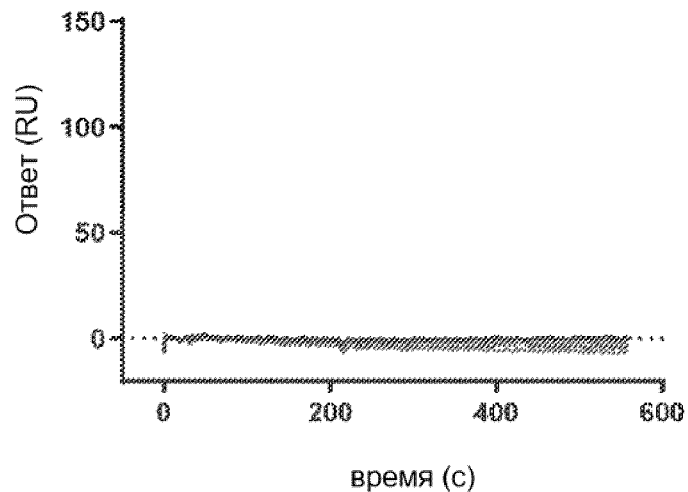


Фиг. 8



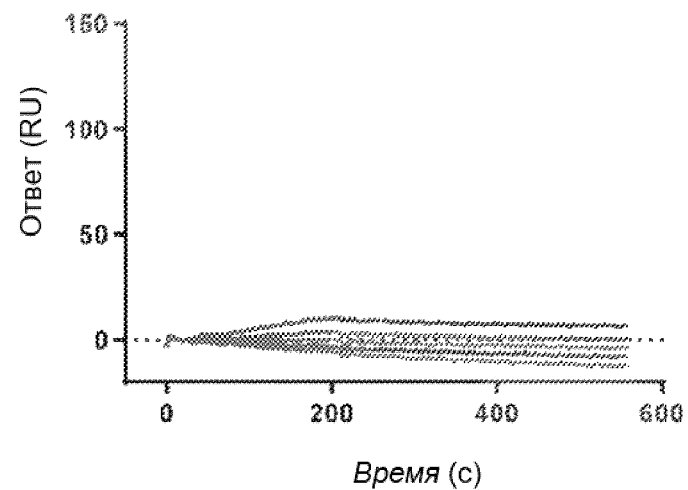
ФИГ. 9А

AK215 и rhCD25-Fc



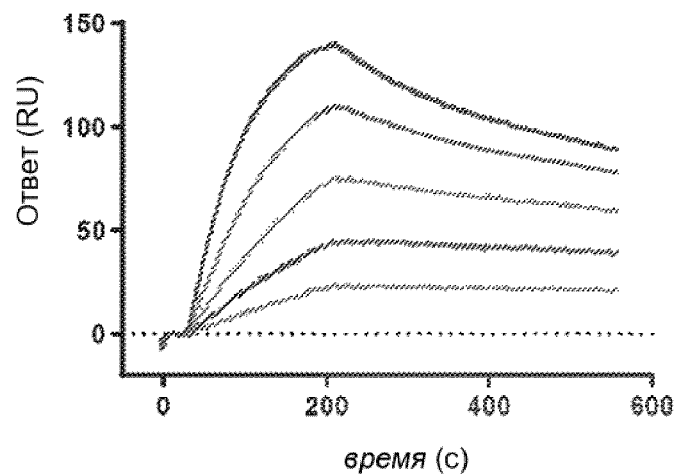
ФИГ. 9В

AK216 и rhCD25-Fc



ФИГ. 9С

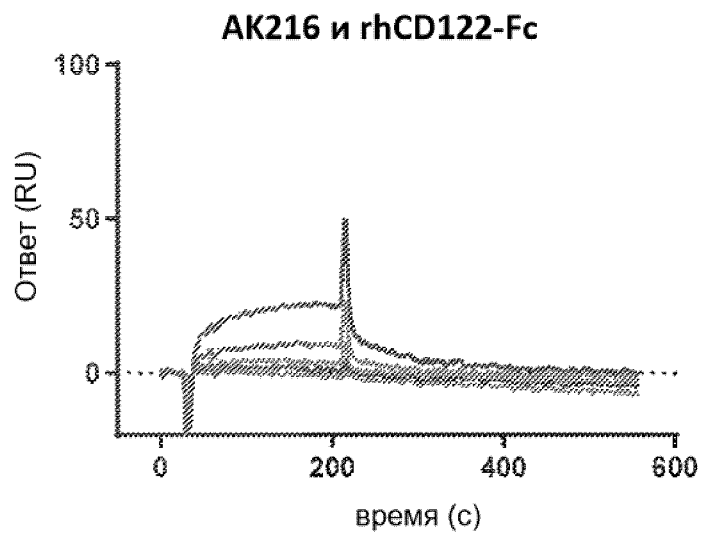
rhIL2 и rhCD25-Fc



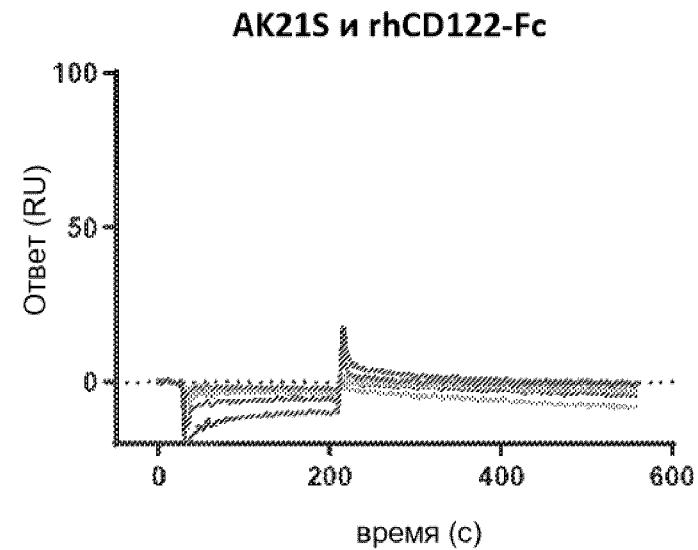
ФИГ. 9D

Образец	ka (1/(M*s))	kd (1/c)	KD	Chi-2	U-значение: kd (%)
AK215	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о
AK216	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о
rhIL2	8,61e+5	1,04e-3	1,21 нМ	4,86	1,2

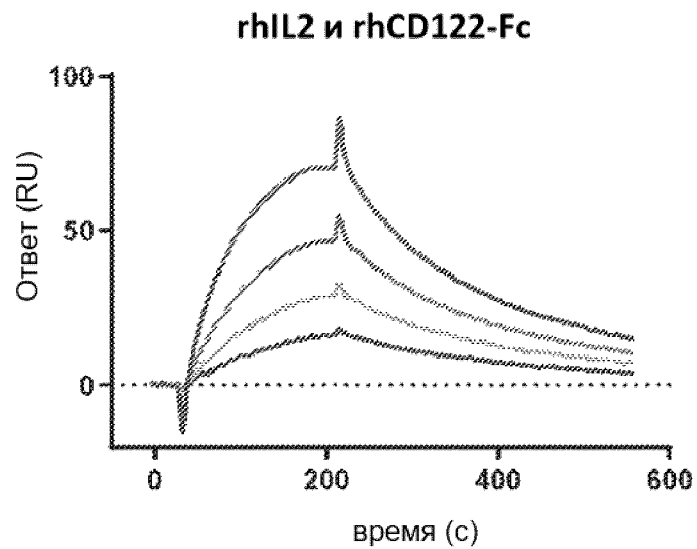
ФИГ. 10А



ФИГ. 10В



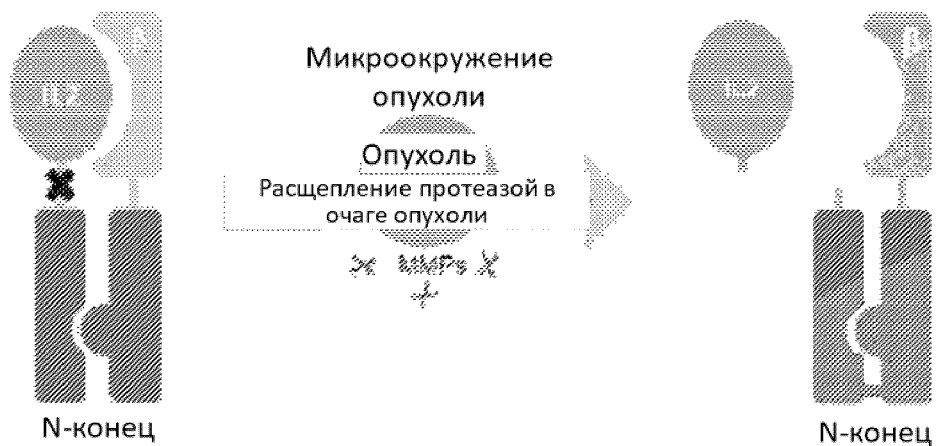
ФИГ. 10С



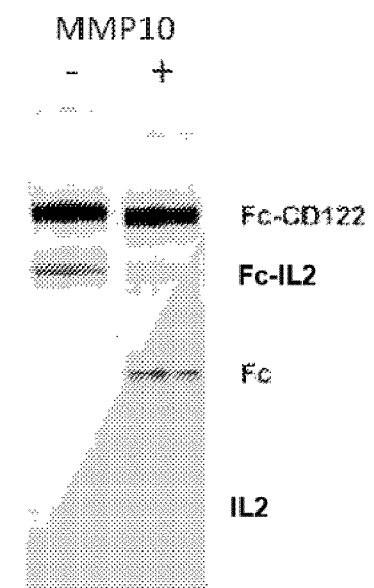
ФИГ. 10D

Образец	k_a ($1/(M \cdot c)$)	k_d (1/сек)	KD	хи-2	U-значение: kd (%)
AK216	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о
AK218	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о
rhIL2	$3,95e+4$	$4,83e-3$	122 нМ	2,06	1,00

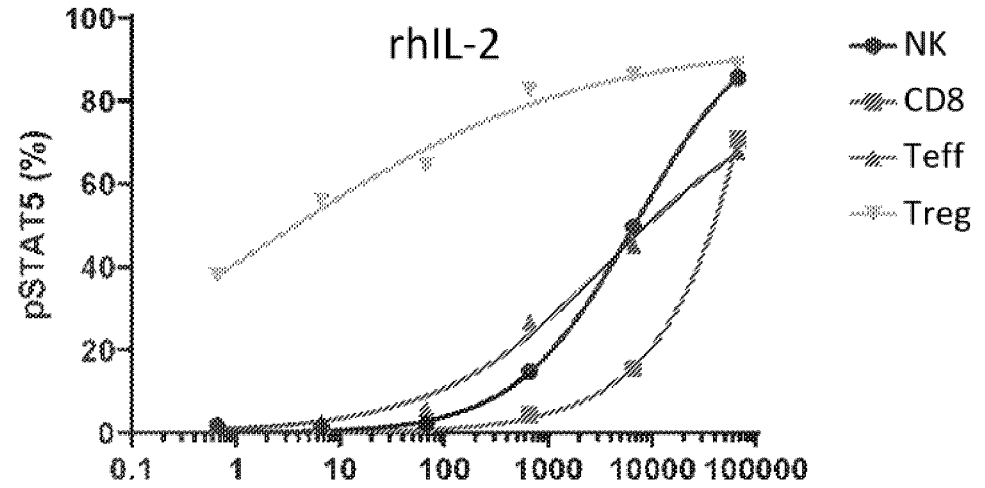
ФИГ. 11А



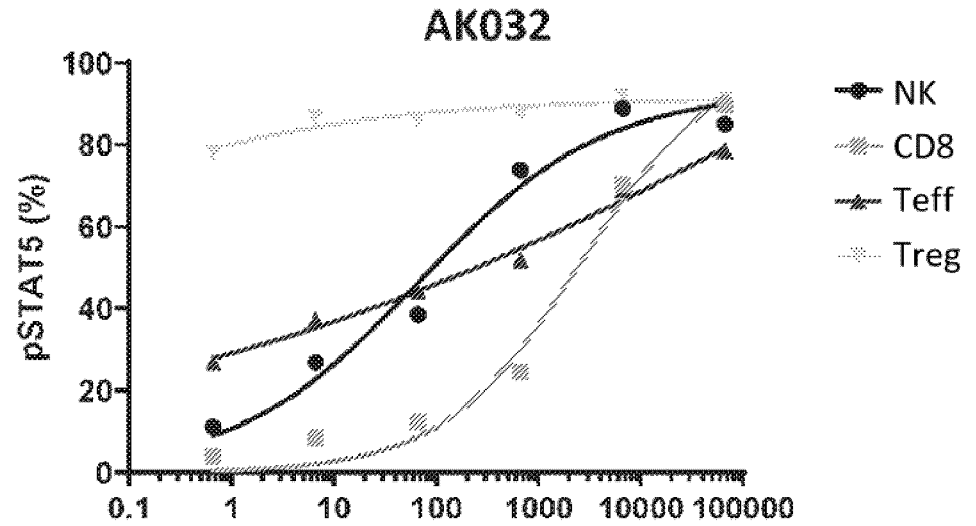
ФИГ. 11В



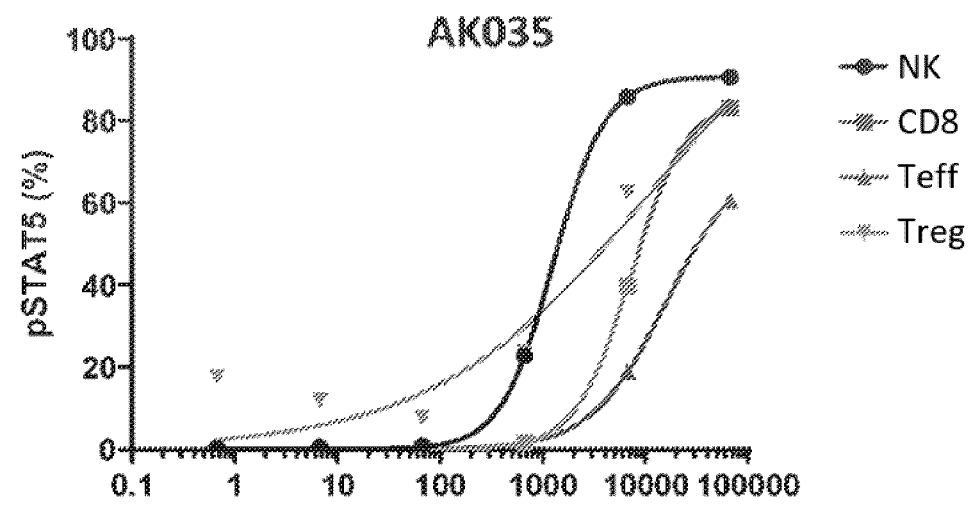
ФИГ. 12А



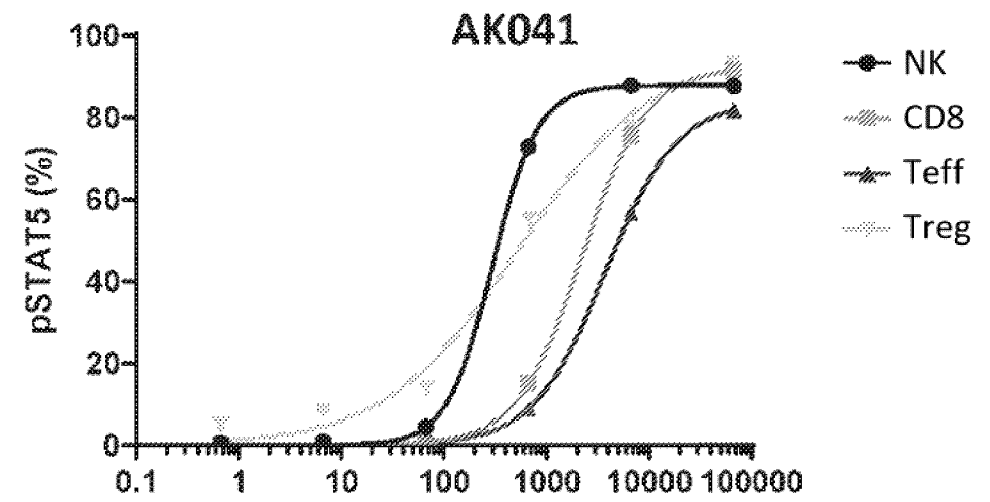
ФИГ. 12В



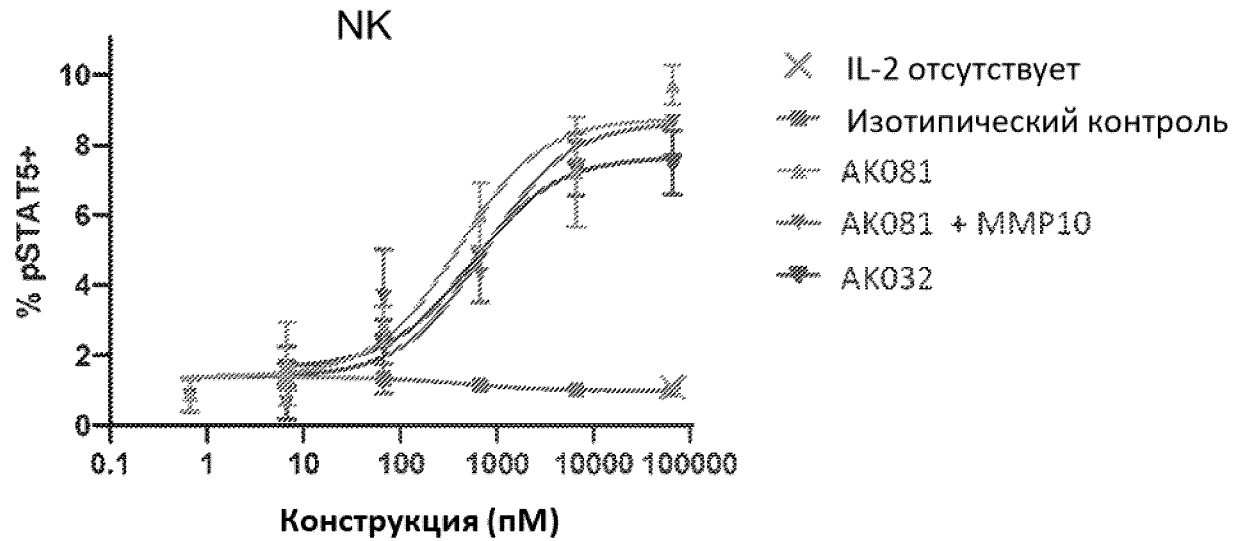
ФИГ. 12С



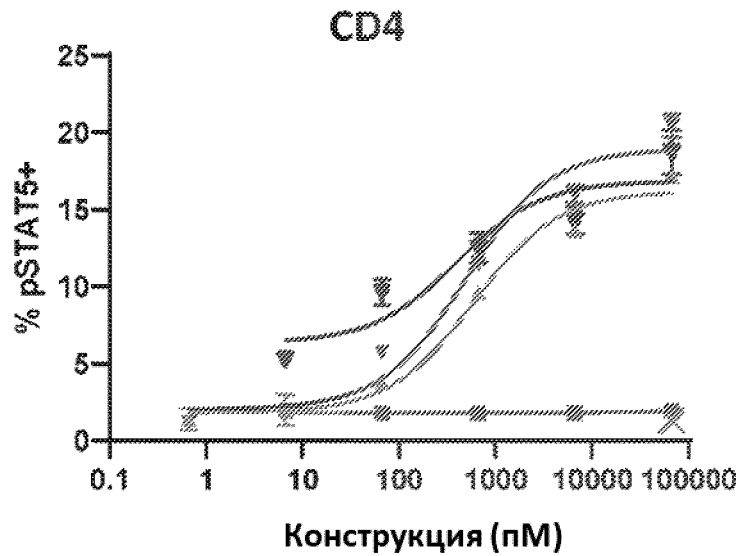
ФИГ. 12D



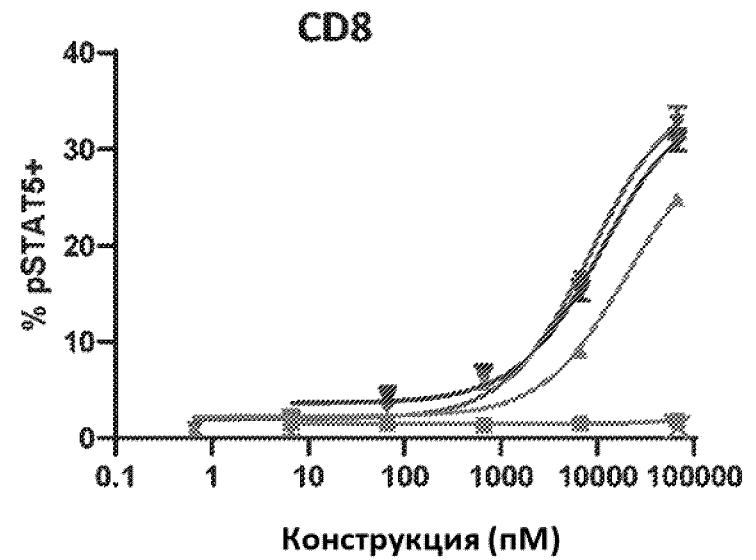
ФИГ. 13А



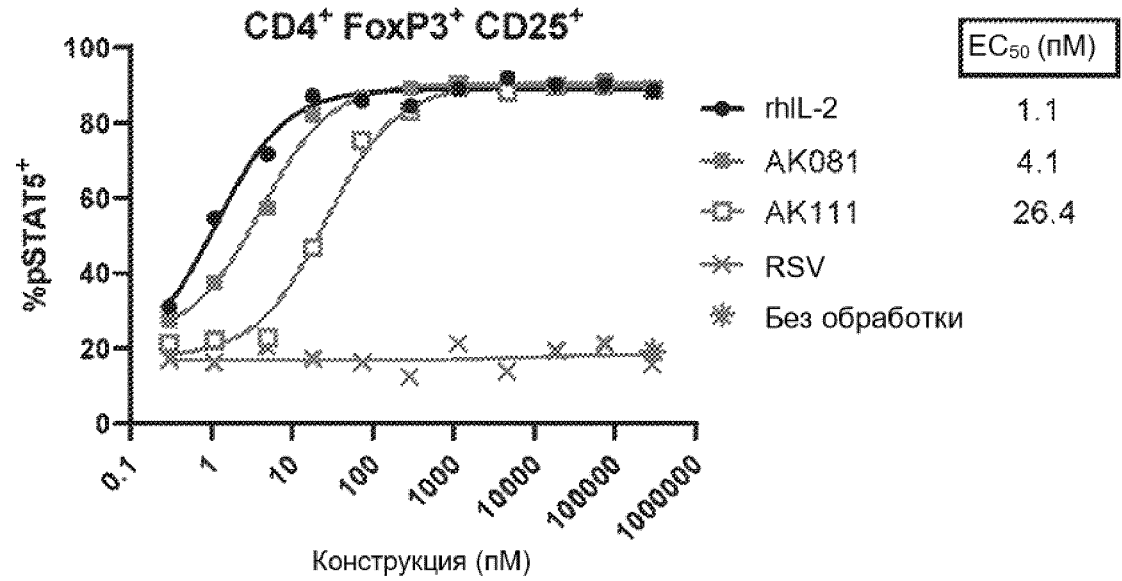
ФИГ. 13В



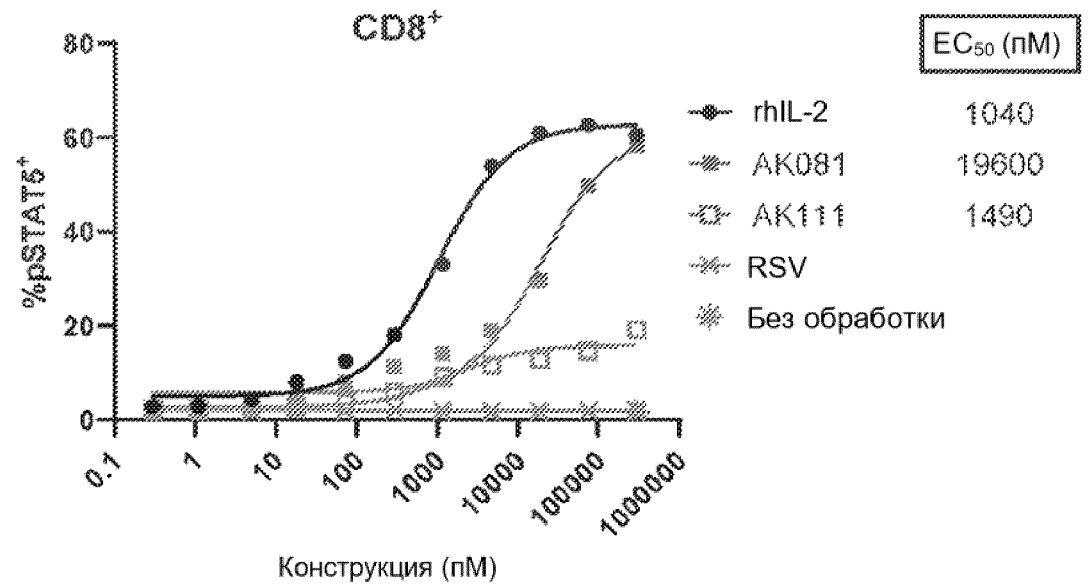
ФИГ. 13С



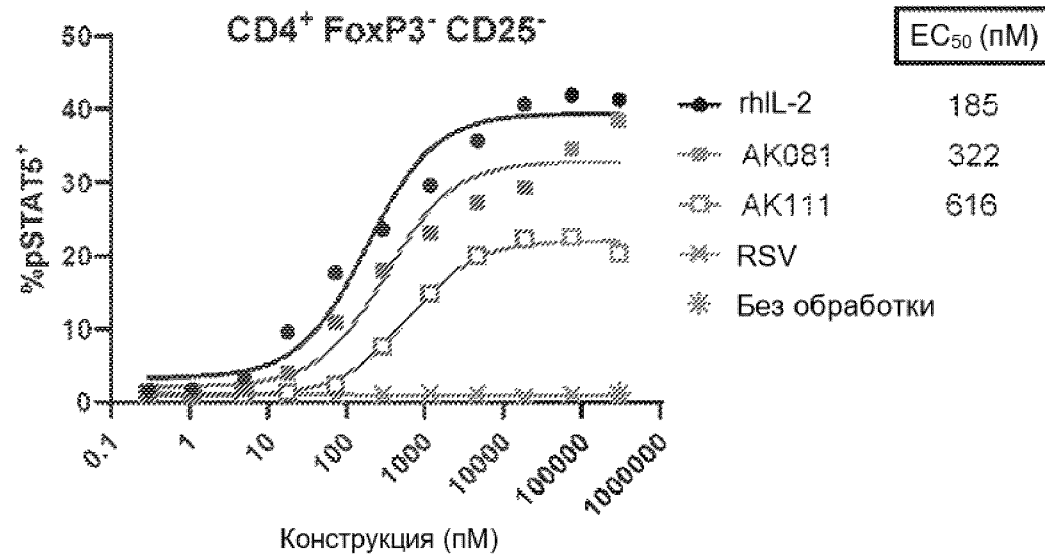
ФИГ. 14А



ФИГ. 14В



ФИГ. 14С

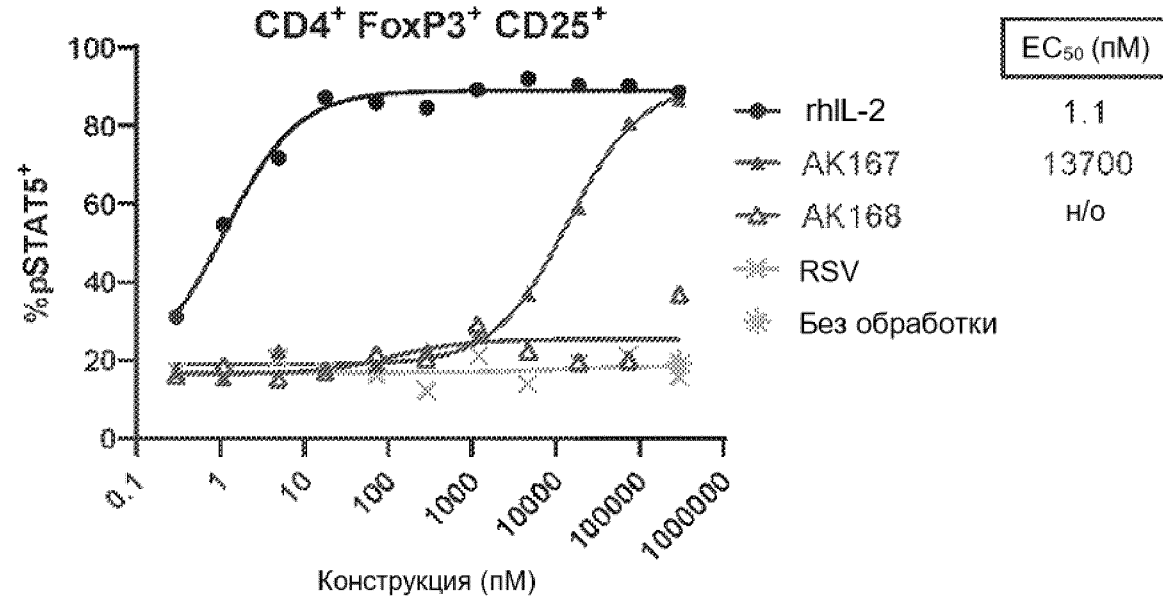


ФИГ. 14D

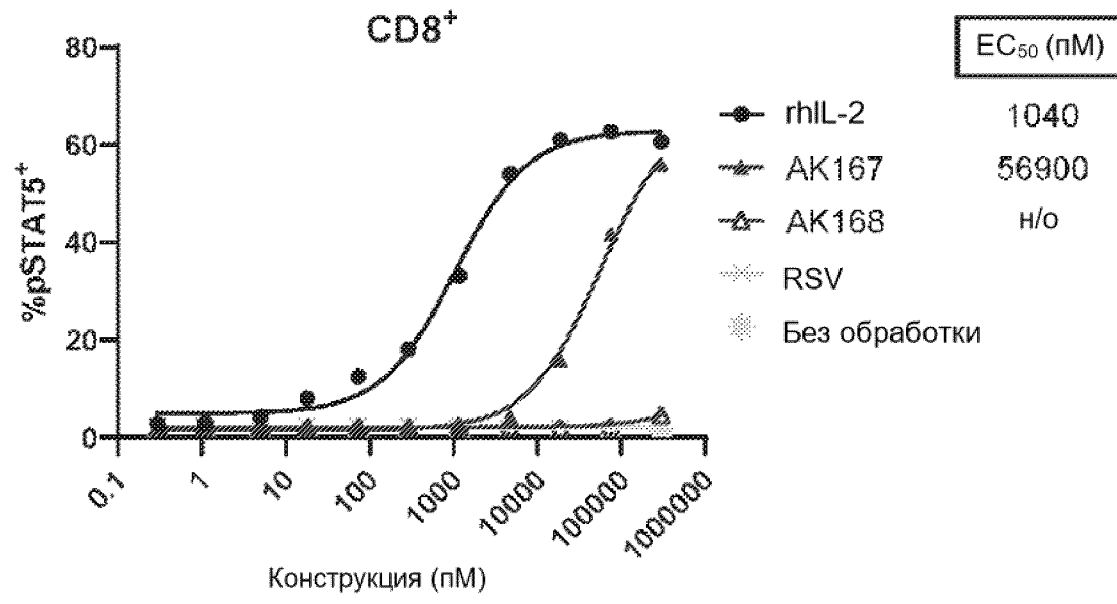
Конструкция	FoxP3 ⁺ T _{reg}		CD8 ⁺ T _{help}		CD8 ⁺ T _{cyto}	
	EC ₅₀ (пМ)	Кратность изменения	EC ₅₀ (пМ)	Кратность изменения	EC ₅₀ (пМ)	Кратность изменения
rhIL-2	1,1		1040		185	
AK081	4,1	3,7	19600	18,8	322	1,7
AK111	26,4	24,0	1490*	1,4*	616	3,3

* С помощью Prism можно было найти наиболее подходящее значение, но нельзя было рассчитать полный доверительный интервал. Это наиболее подходящее значение следует интерпретировать с осторожностью.

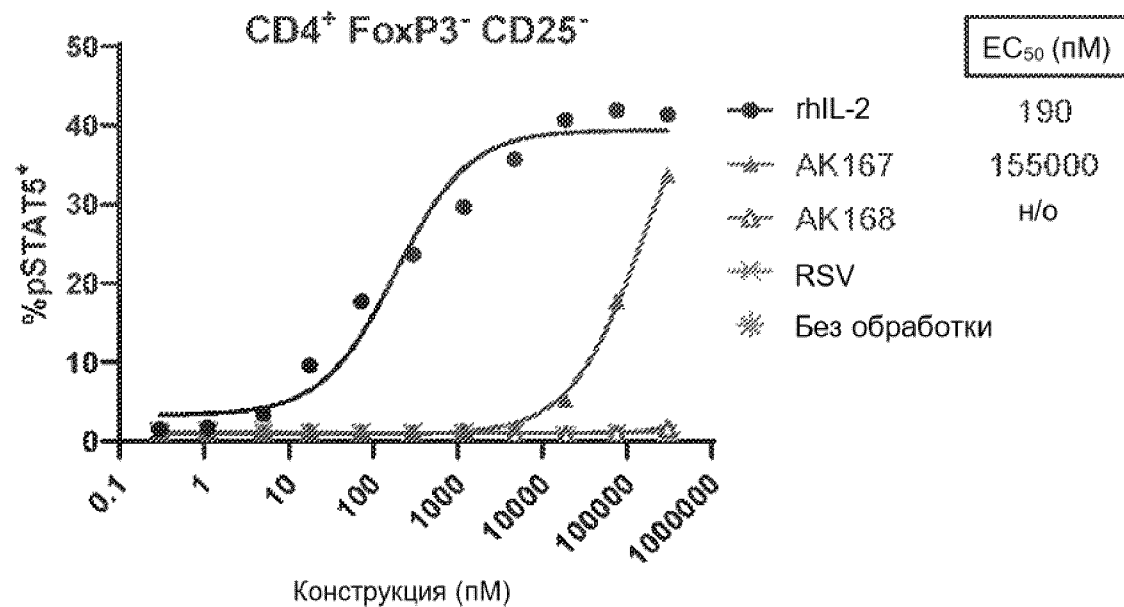
ФИГ. 15А



ФИГ. 15В



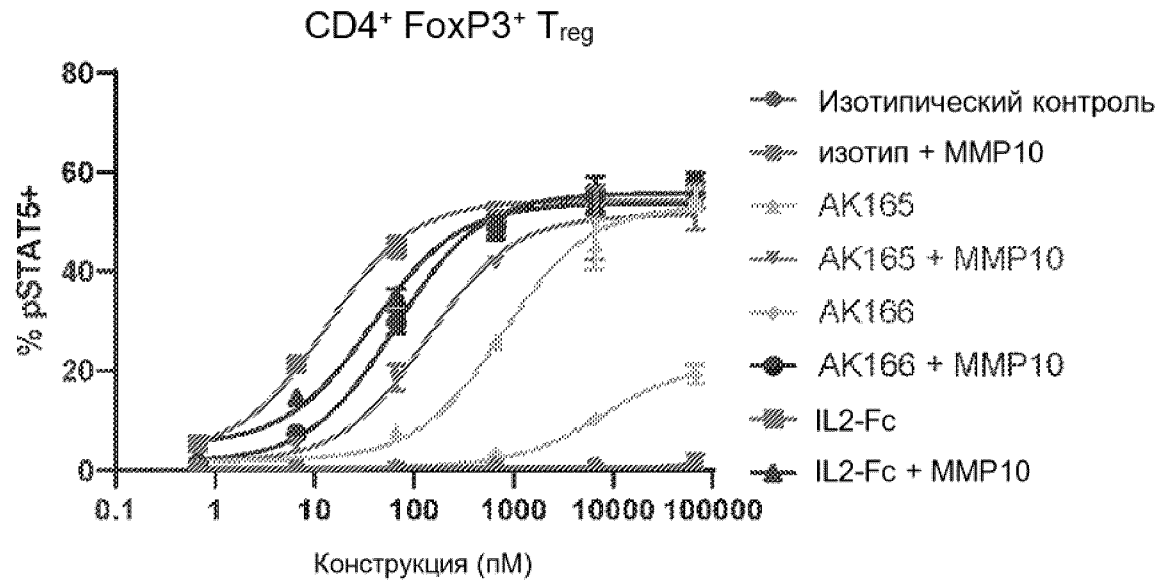
ФИГ. 15С



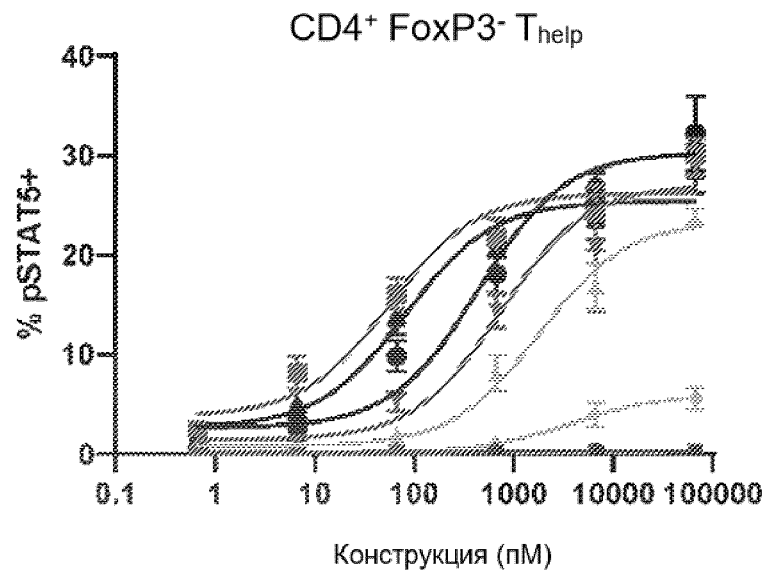
ФИГ. 15D

Конструкция	FoxP3 ⁺ T _{reg}		CD4 ⁺ T _{help}		CD8 ⁺ T _{cyto}	
	EC ₅₀ (пМ)	Кратность изменения	EC ₅₀ (пМ)	Кратность изменения	EC ₅₀ (пМ)	Кратность изменения
rhIL-2	1,1		1040		190	
AK167	13700	12455	56900	55	155000	816
AK168	н/о		н/о		н/о	

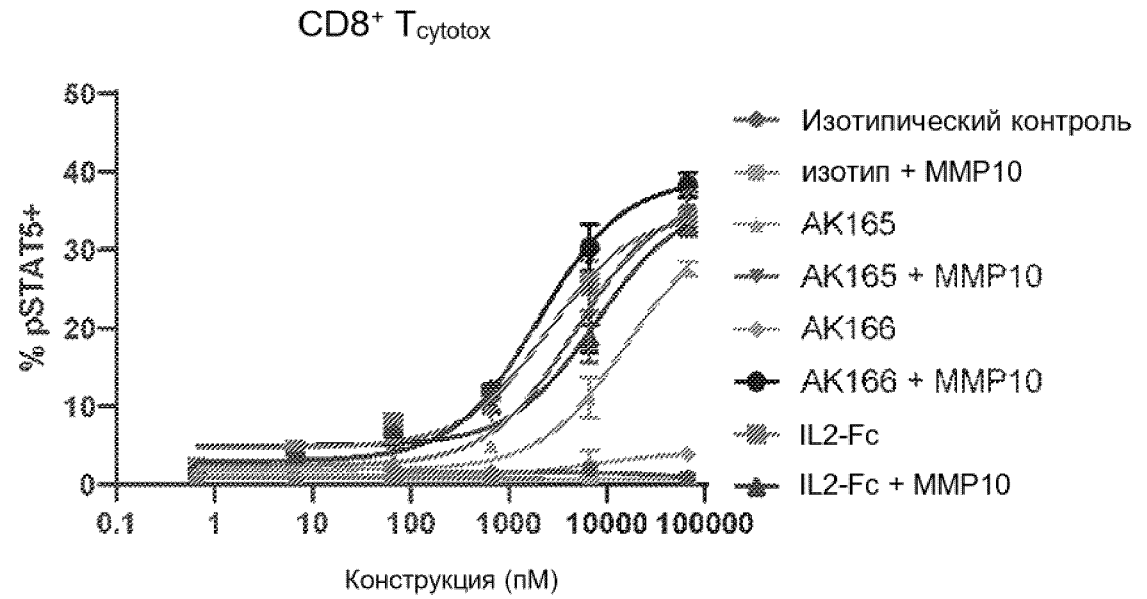
ФИГ. 16А



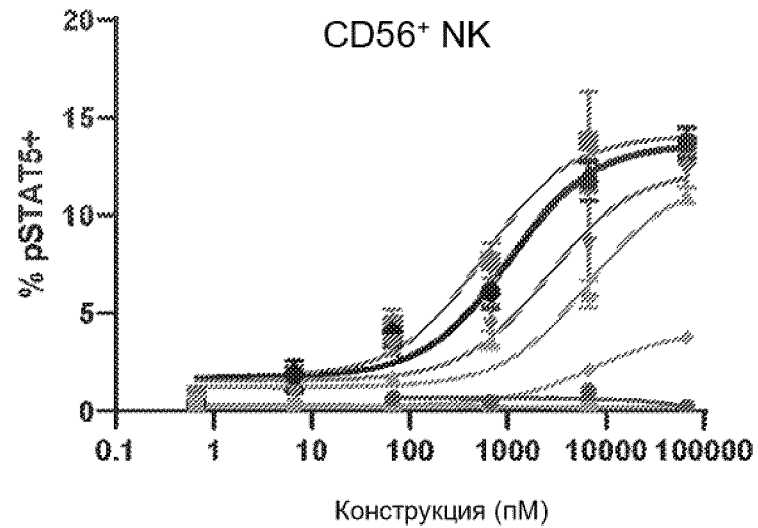
ФИГ. 16В



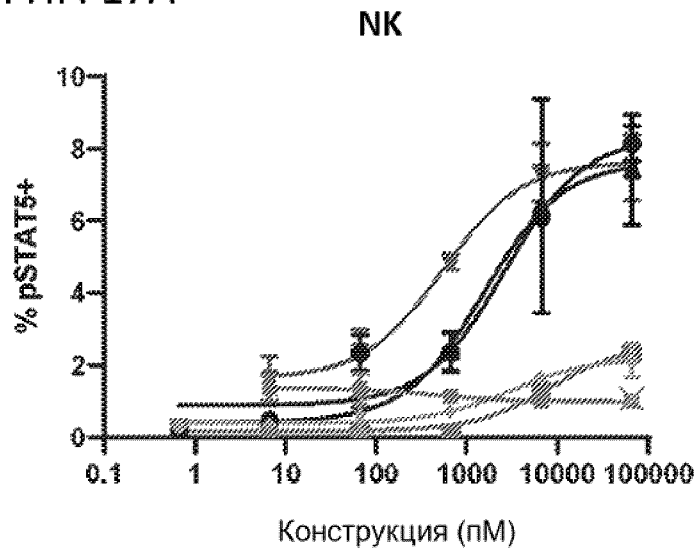
ФИГ. 16С



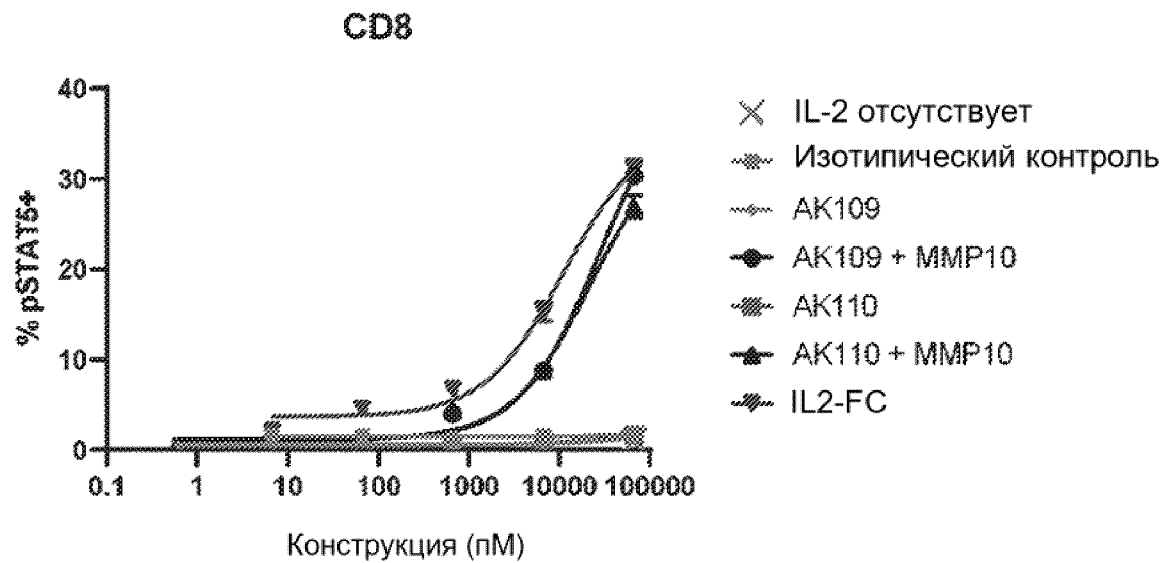
ФИГ. 16D



ФИГ. 17А

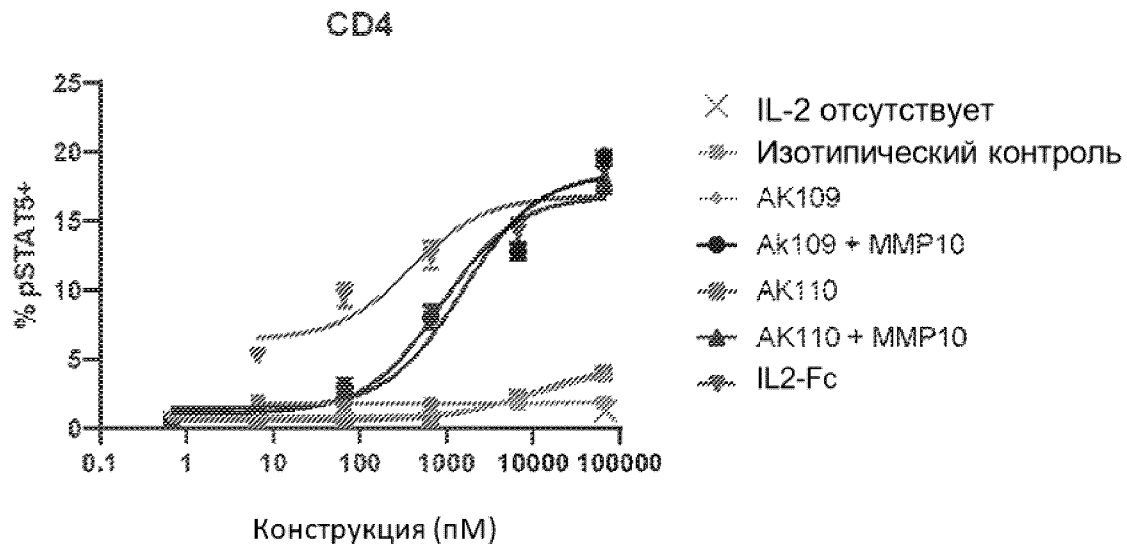


ФИГ. 17В



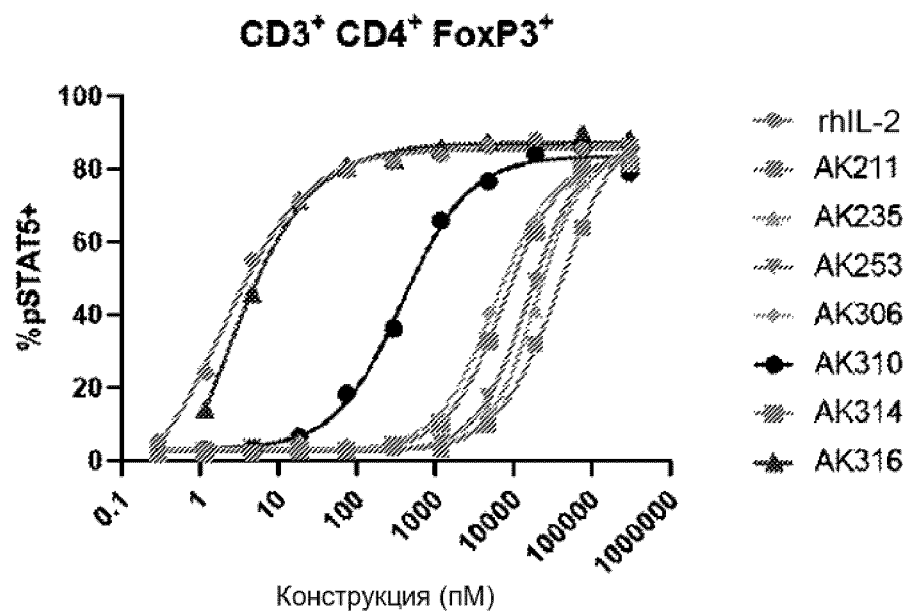
- × IL-2 отсутствует
- ▨ Изотипический контроль
- ⋯ AK109
- AK109 + MMP10
- ▨ AK110
- ▲ AK110 + MMP10
- ▨ IL2-Fc

ФИГ. 17С

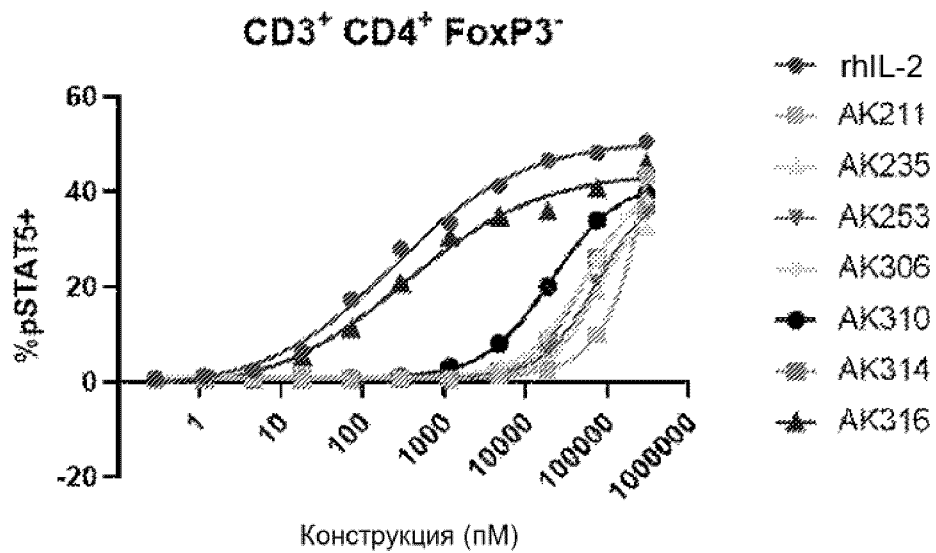


- × IL-2 отсутствует
- ▨ Изотипический контроль
- ⋯ AK109
- AK109 + MMP10
- ▨ AK110
- ▲ AK110 + MMP10
- ▨ IL2-Fc

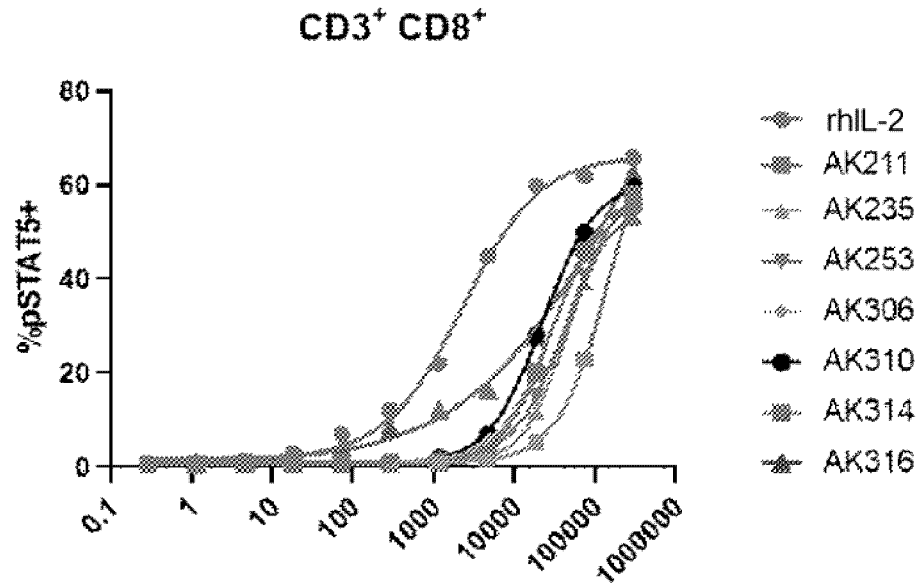
ФИГ. 18А



ФИГ. 18В



ФИГ. 18С

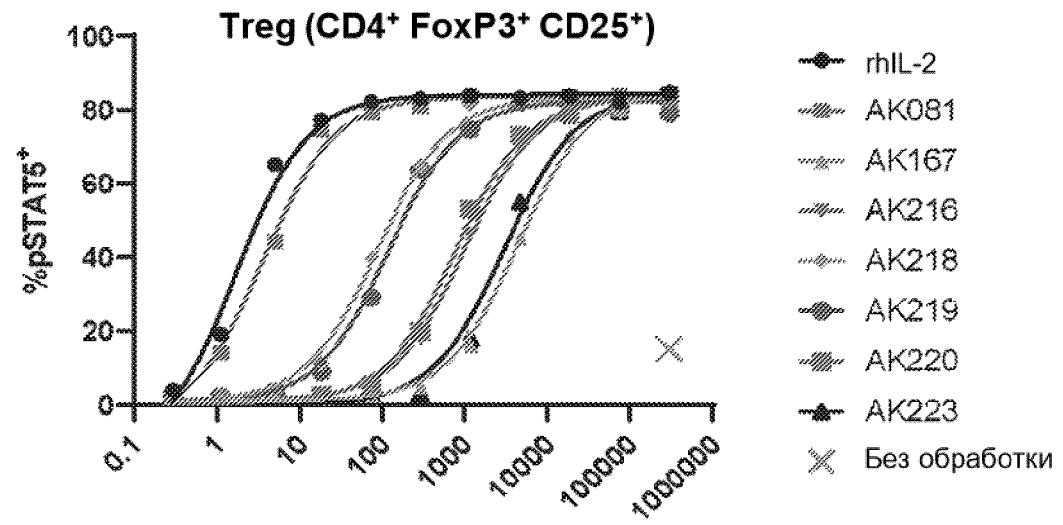


ФИГ. 18D

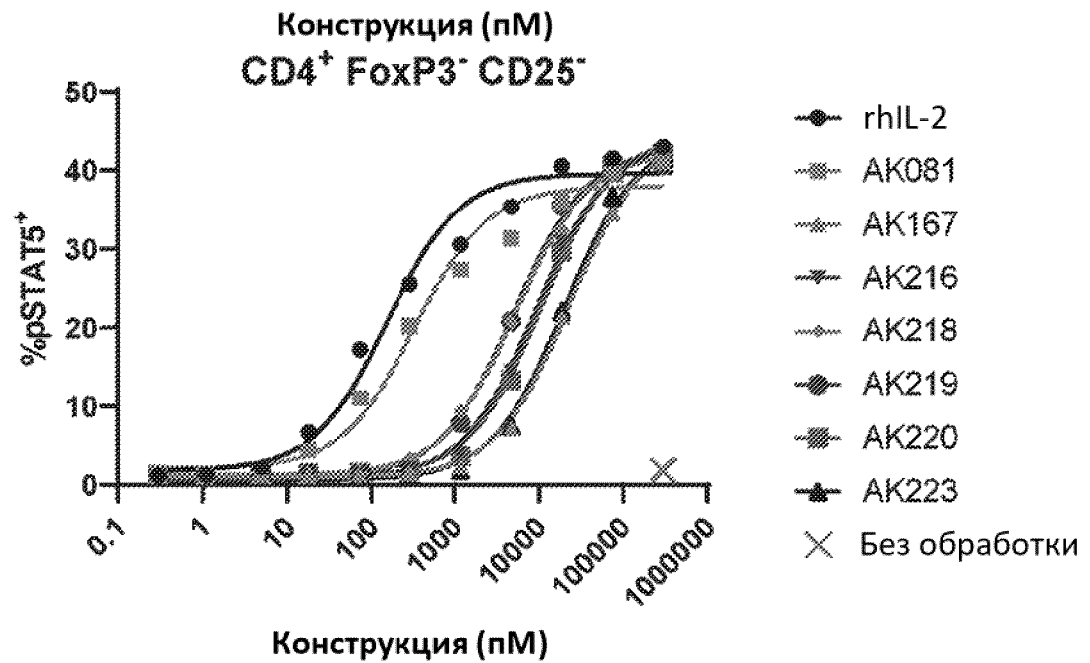
Конструкция (nM)

Конструкция	CD3+ CD4+ FoxP3+	CD3+ CD4+ FoxP3-	CD3+ CD8+
	EC ₅₀ (nM)	EC ₅₀ (nM)	EC ₅₀ (nM)
rhIL-2	1.94	247	2300
AK211	39500	*	164000
AK253	15400	75100	46400
AK235	19200	69500	44100
AK314	7250	49400	29500
AK306	5680	56300	28800
AK310	373	20800	22300
AK316	1.73	331	167000**

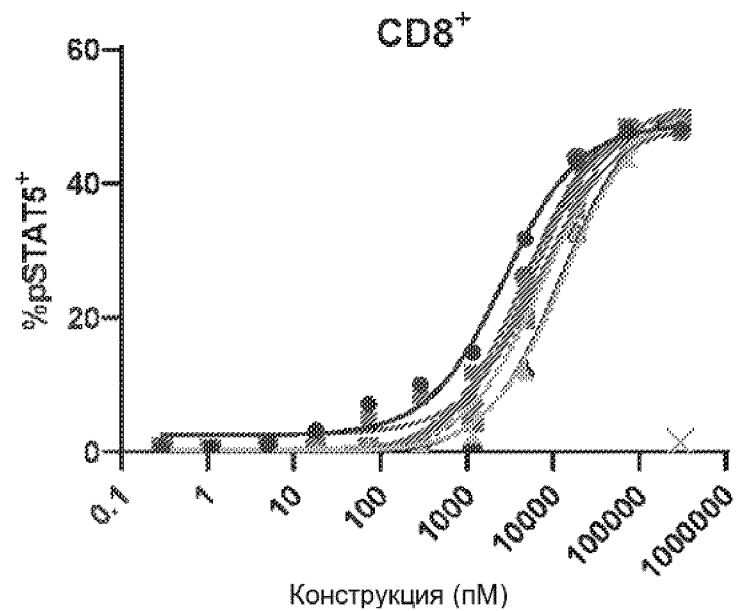
ФИГ. 19А



ФИГ. 19В



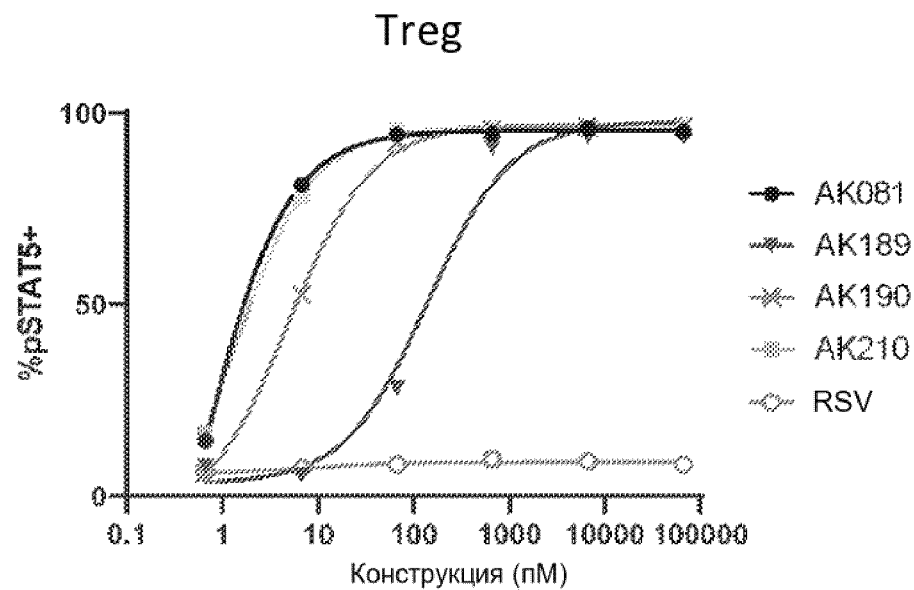
ФИГ. 19С



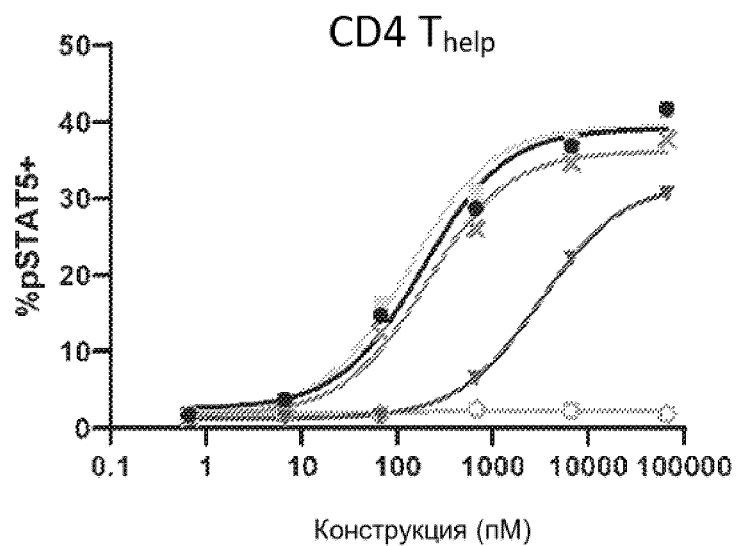
ФИГ. 19D

Конструкция	FoxP3 ⁺ T _{reg}	CD4 ⁺ T _{help}	CD8 ⁺ T _{cyto}
	EC ₅₀ (пМ)	EC ₅₀ (пМ)	EC ₅₀ (пМ)
rhIL-2	1.67	154	2710
AK081	3.59	332	6700
AK167	4390	22900	13200
AK216	1020	9200	5490
AK218	86.7	5270	7550
AK219	117	5030	4570
AK220	782	10900	7650
AK223	3040	20200	12600

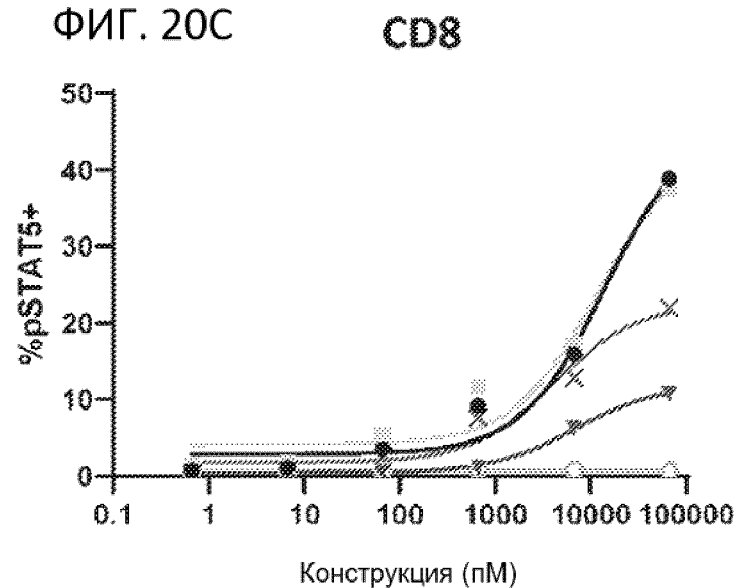
ФИГ. 20А



ФИГ. 20В



ФИГ. 20С



ФИГ. 21А

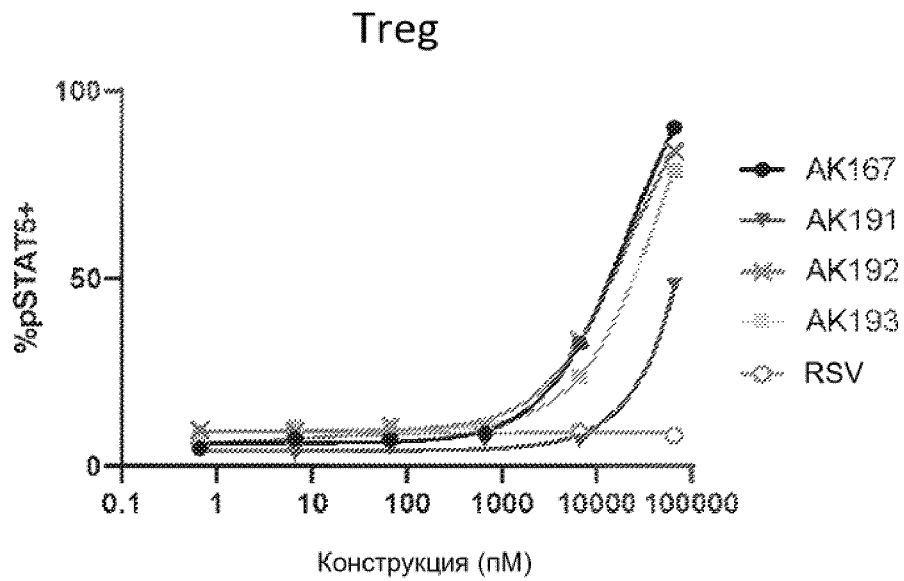
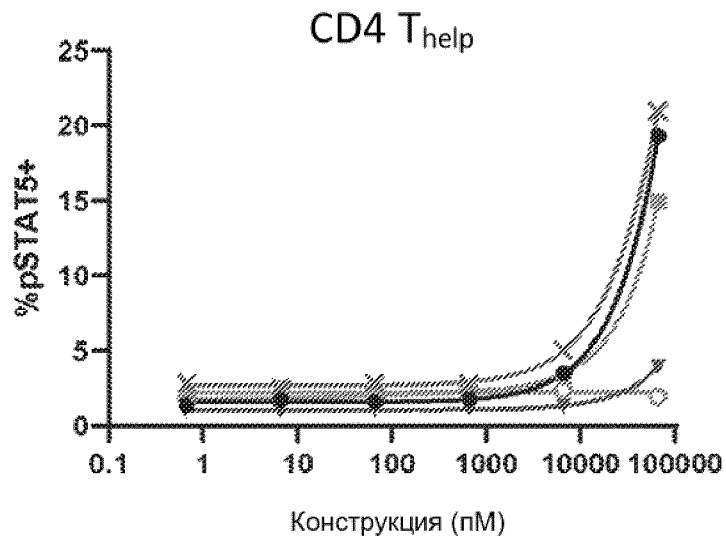
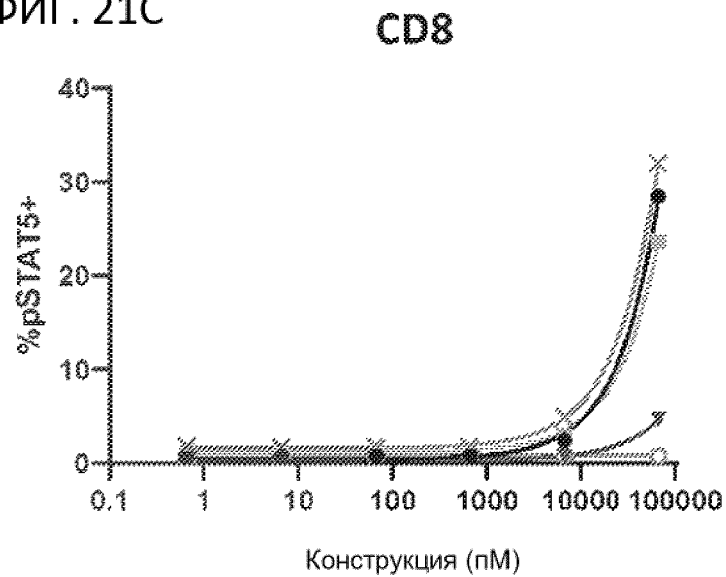


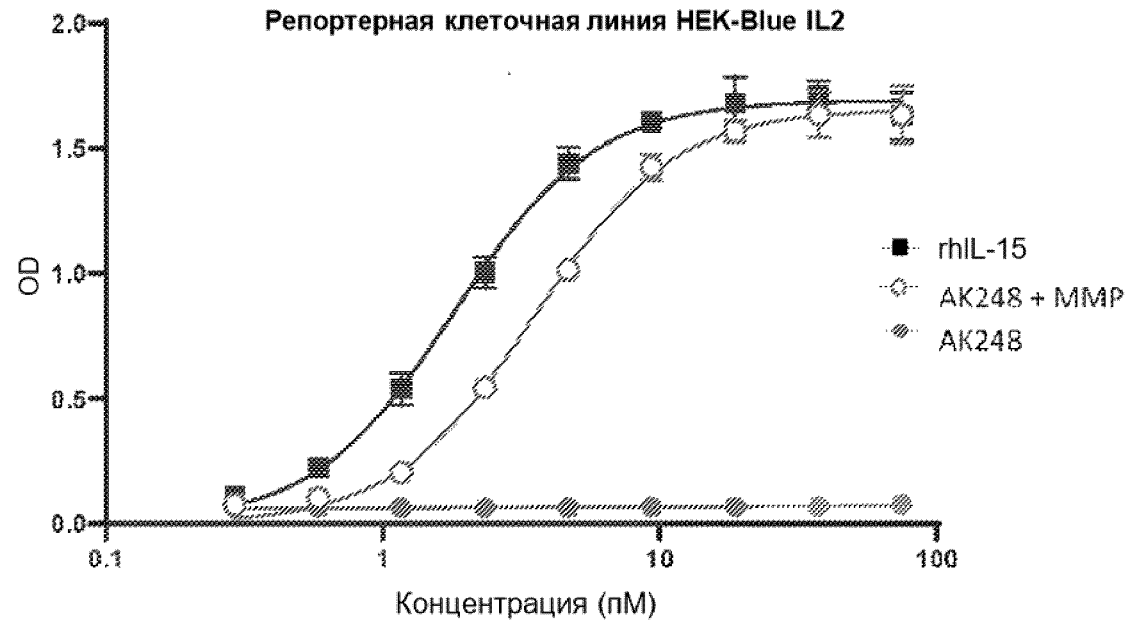
FIG.21B



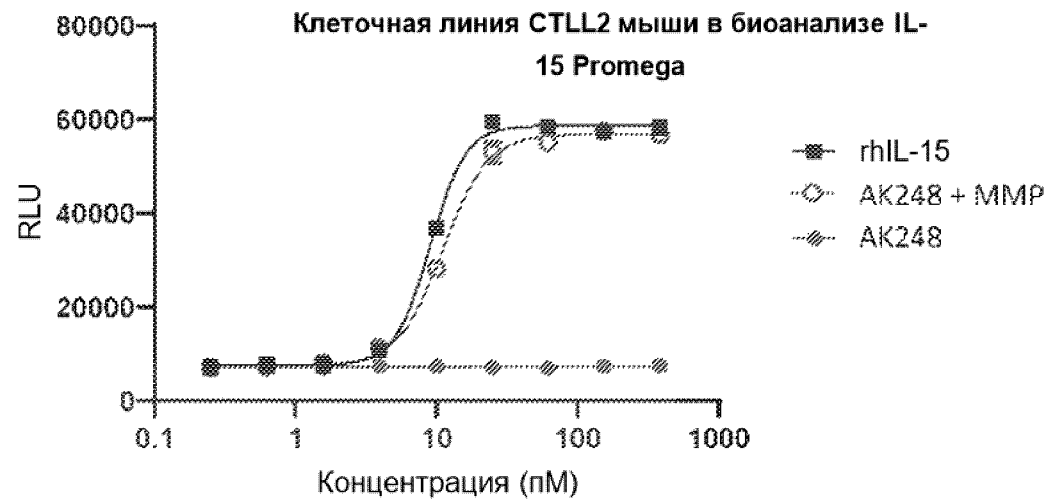
ФИГ. 21С



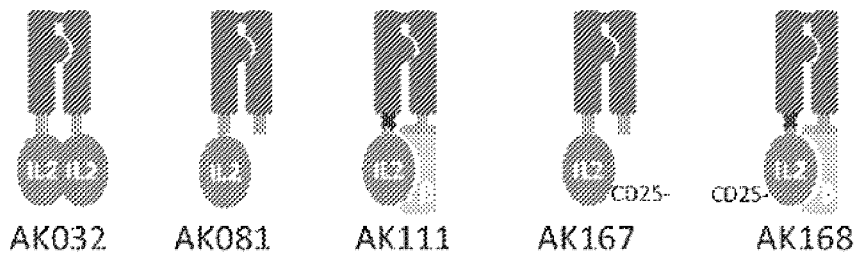
ФИГ. 22А



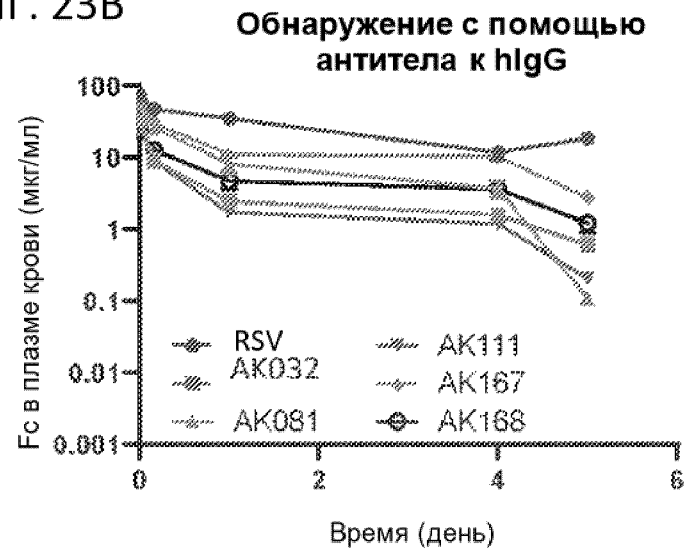
ФИГ. 22В



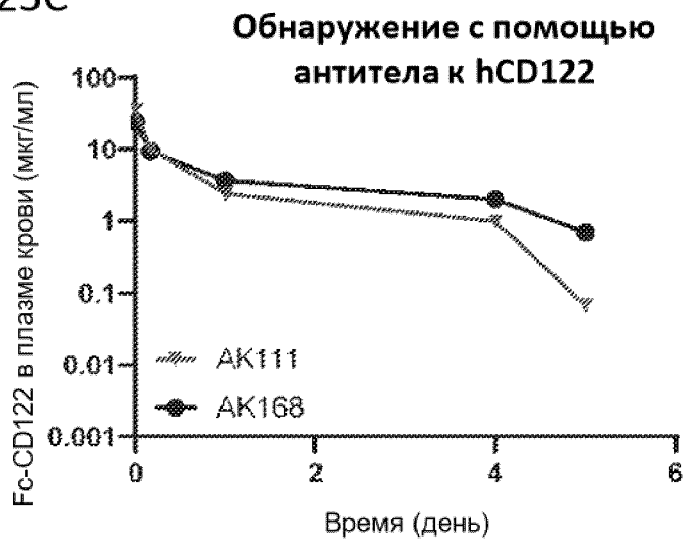
ФИГ. 23А



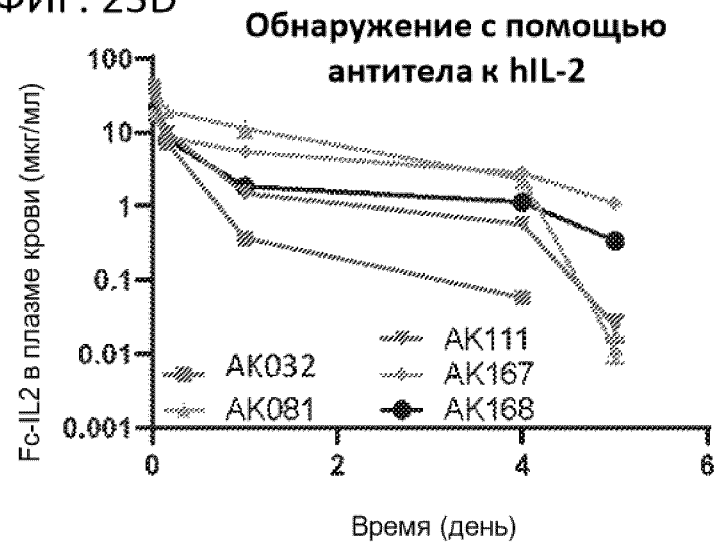
ФИГ. 23В



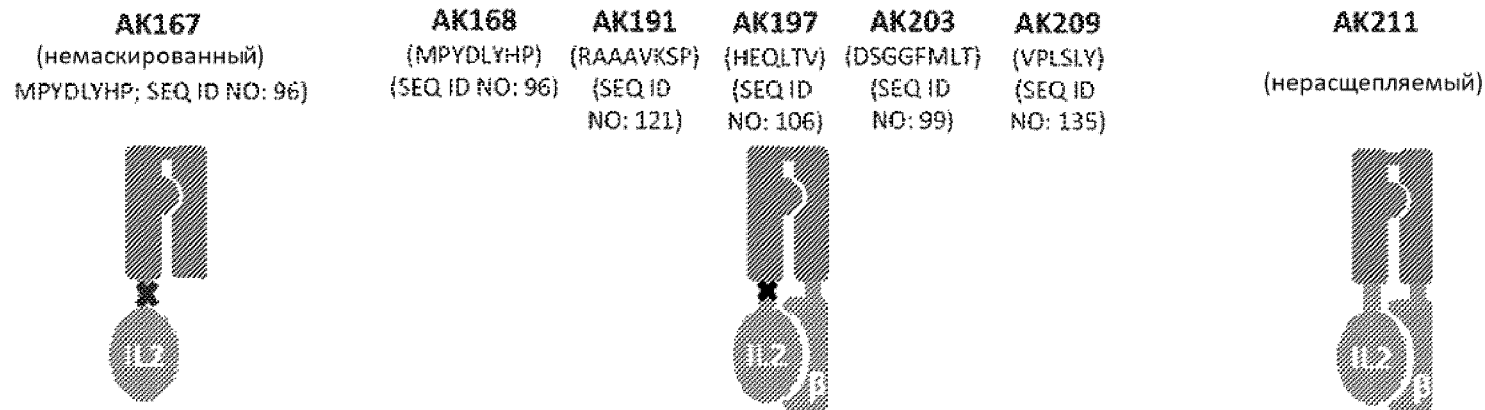
ФИГ. 23С



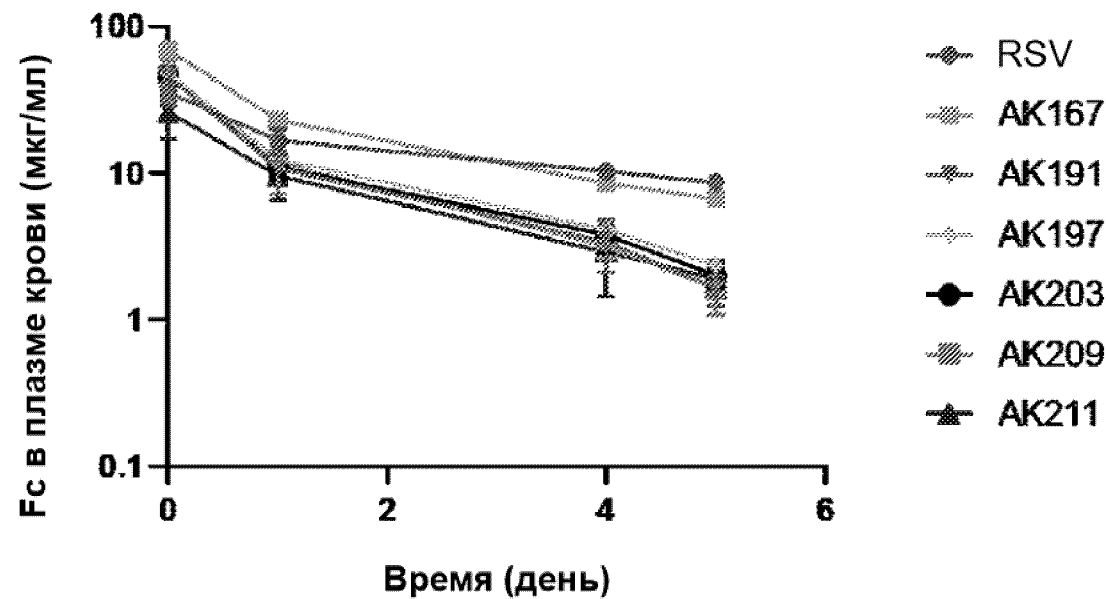
ФИГ. 23D



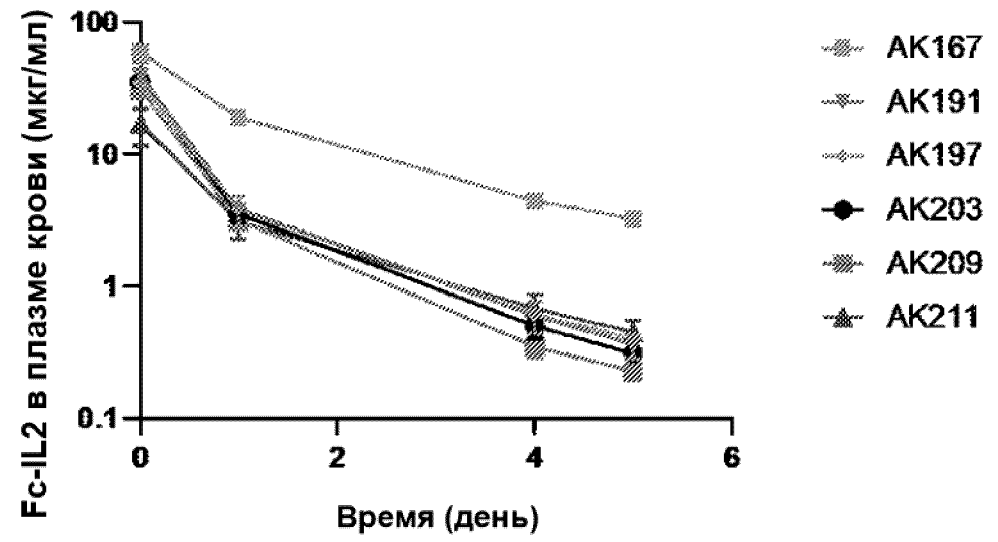
ФИГ. 24А



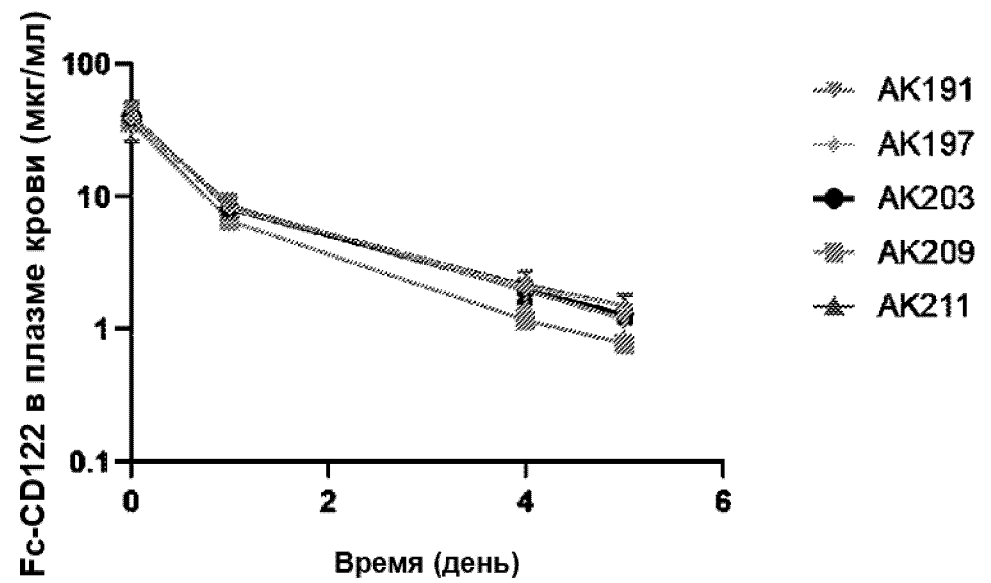
ФИГ. 24В



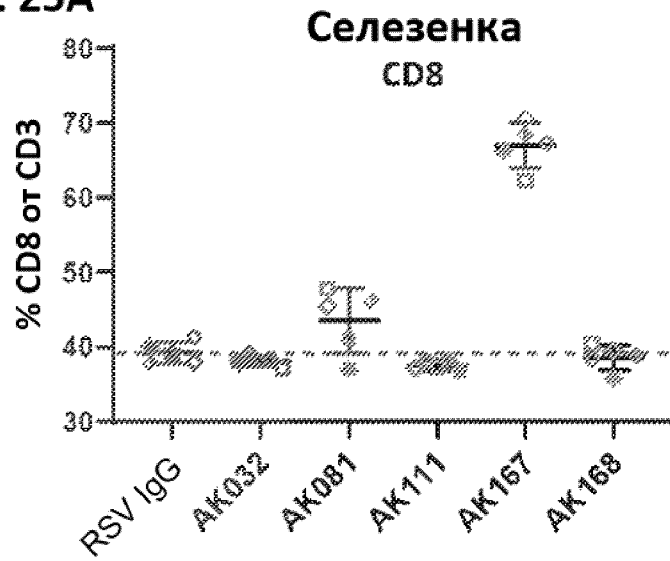
ФИГ. 24С



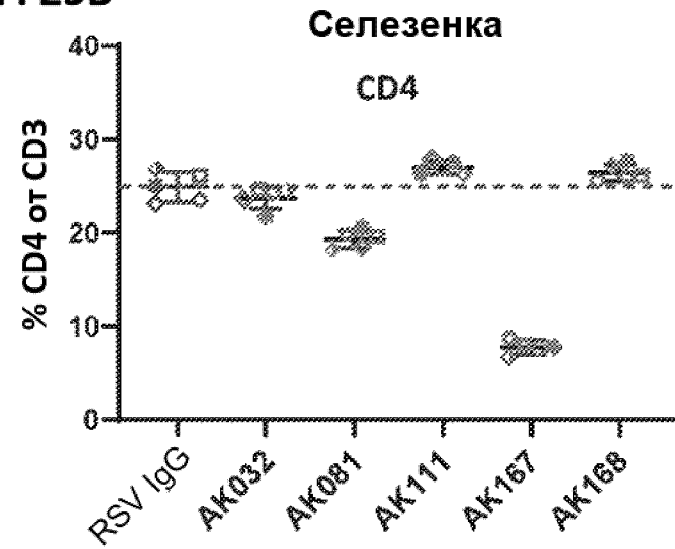
ФИГ. 24D



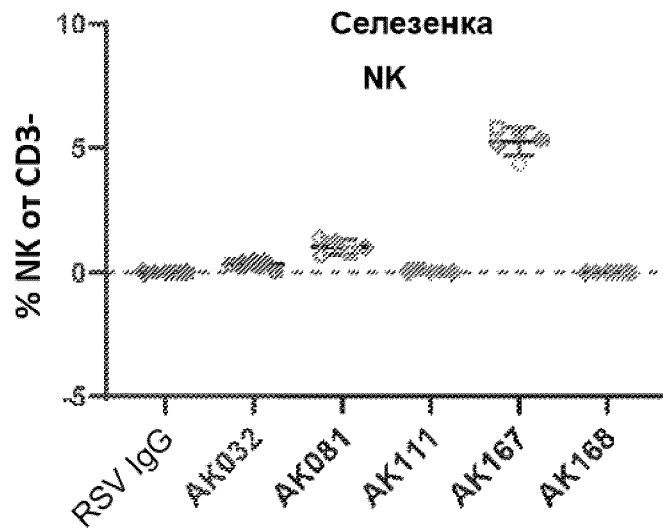
ФИГ. 25А



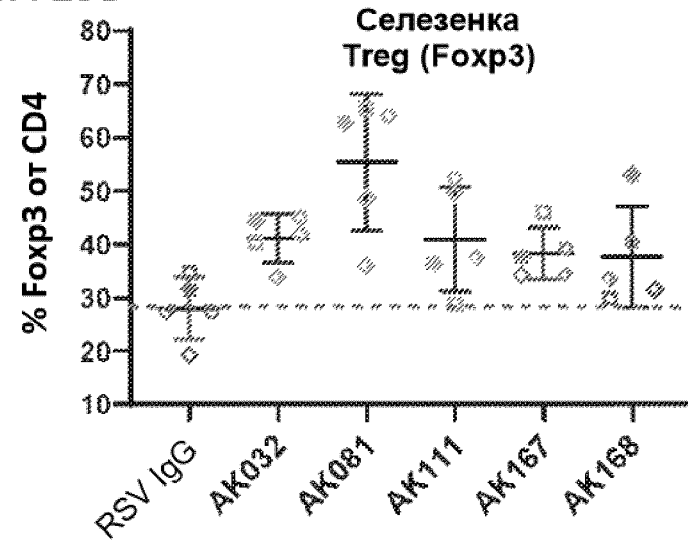
ФИГ. 25В



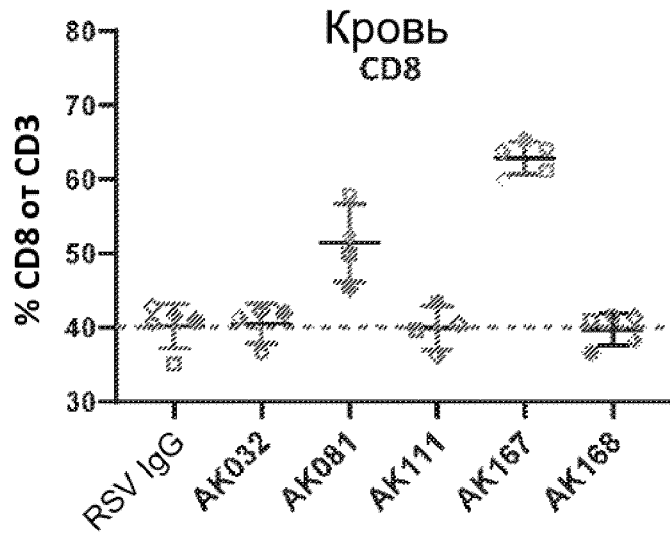
ФИГ. 25С



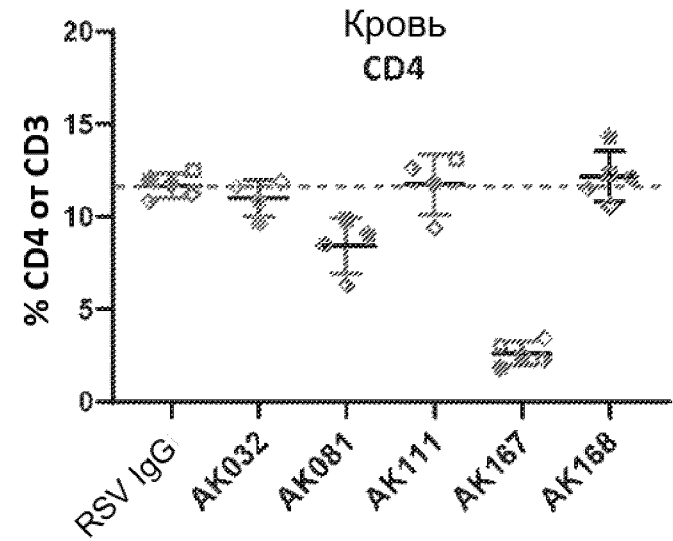
ФИГ. 25D



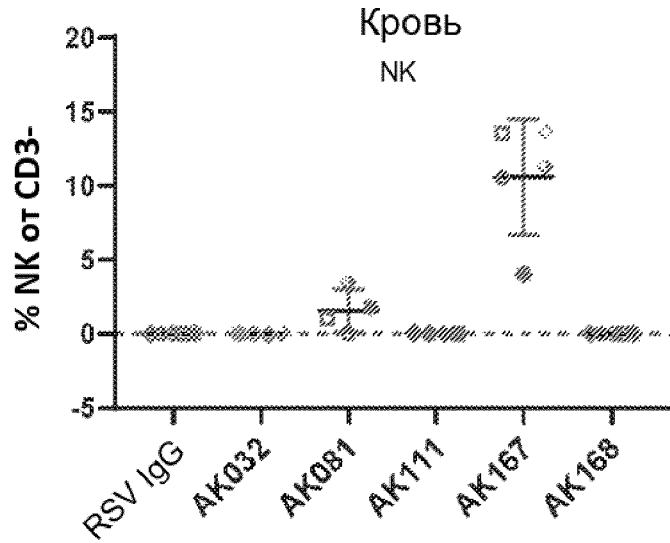
ФИГ. 25Е



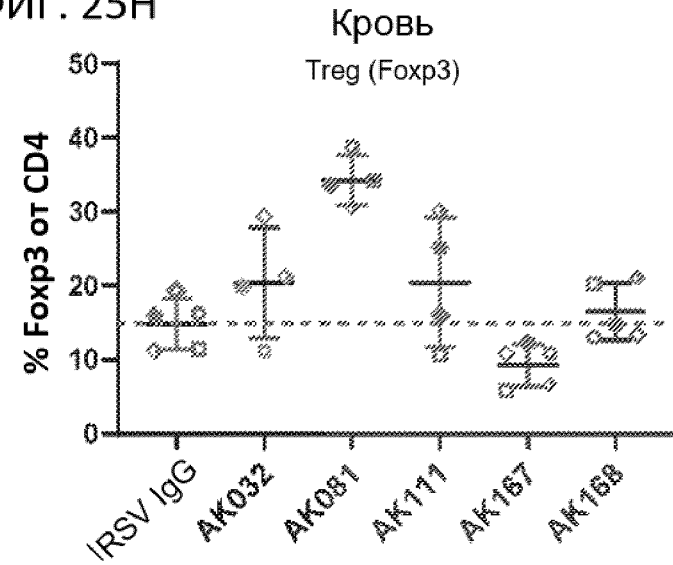
ФИГ. 25F



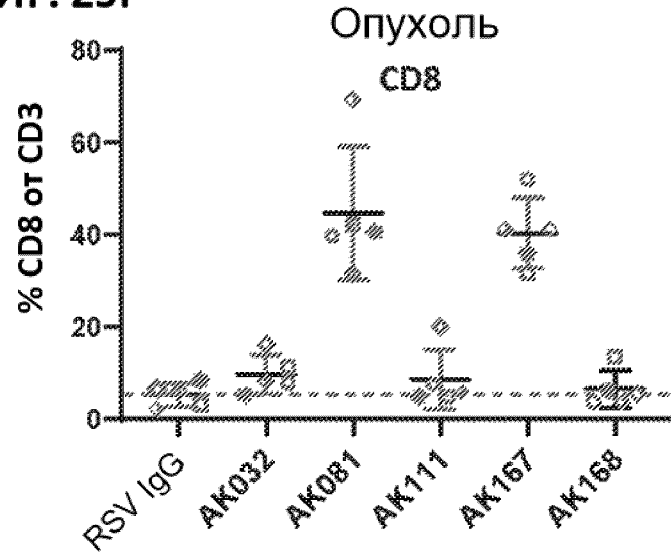
ФИГ. 25G



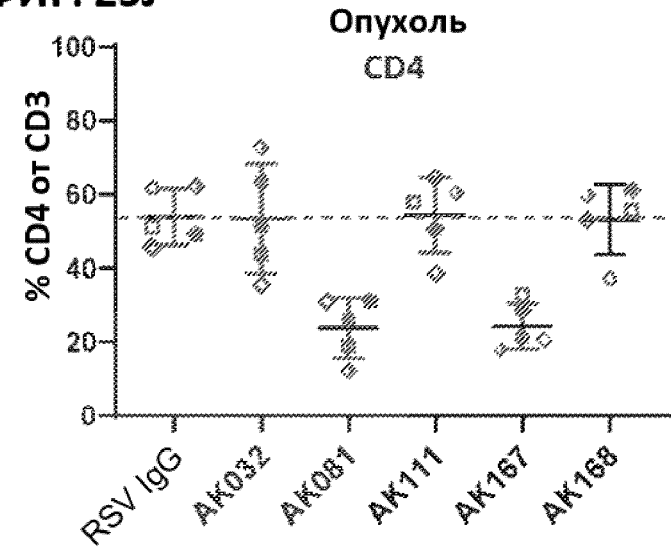
ФИГ. 25H



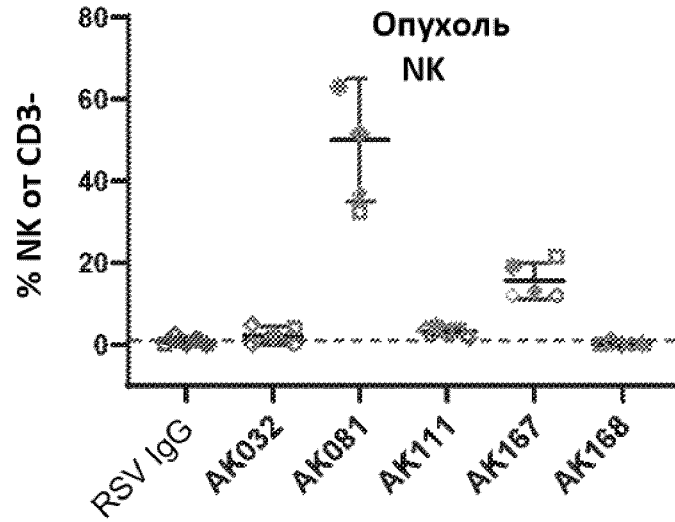
ФИГ. 25I



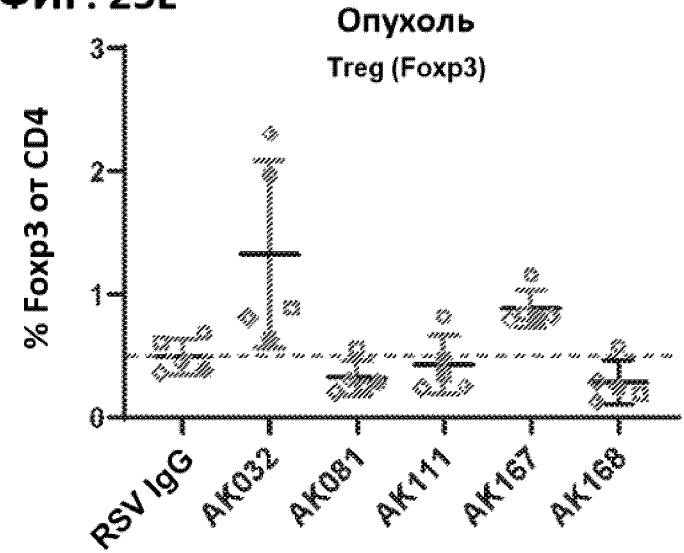
ФИГ. 25J



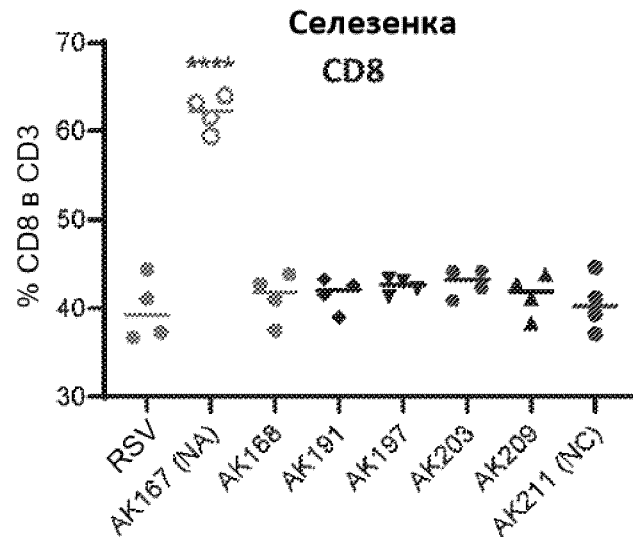
ФИГ. 25K



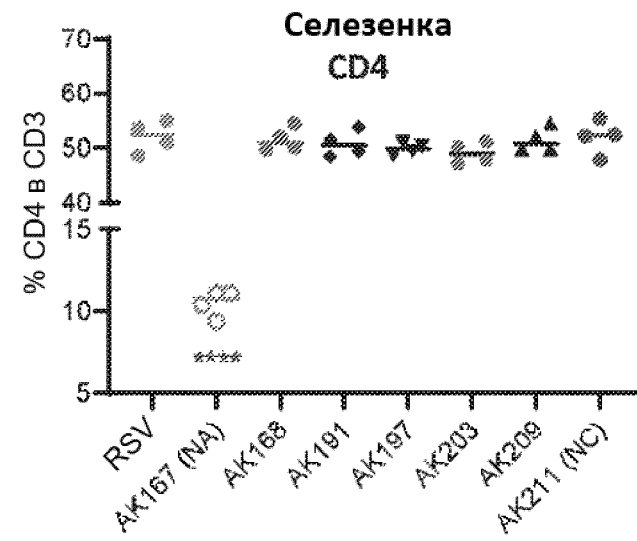
ФИГ. 25L



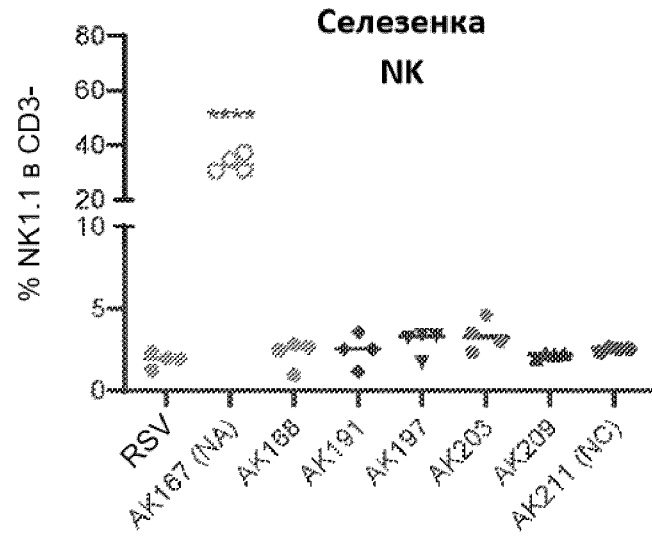
ФИГ. 26А



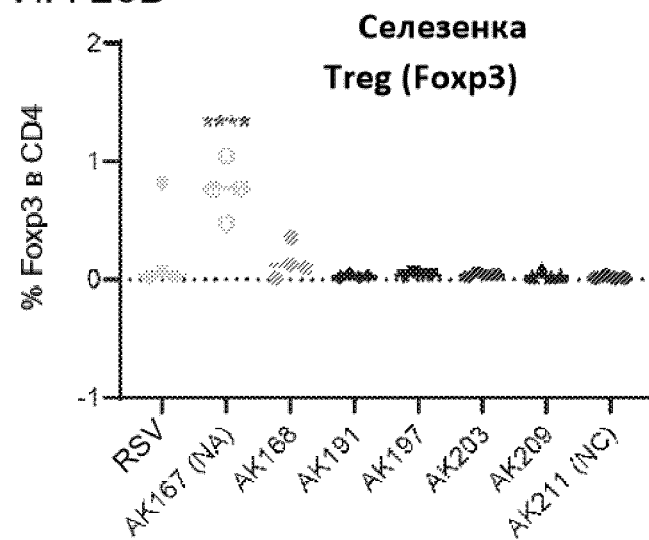
ФИГ. 26В



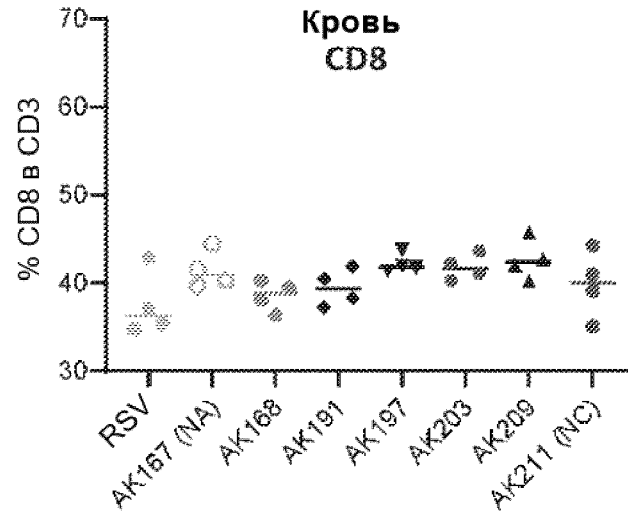
ФИГ. 26С



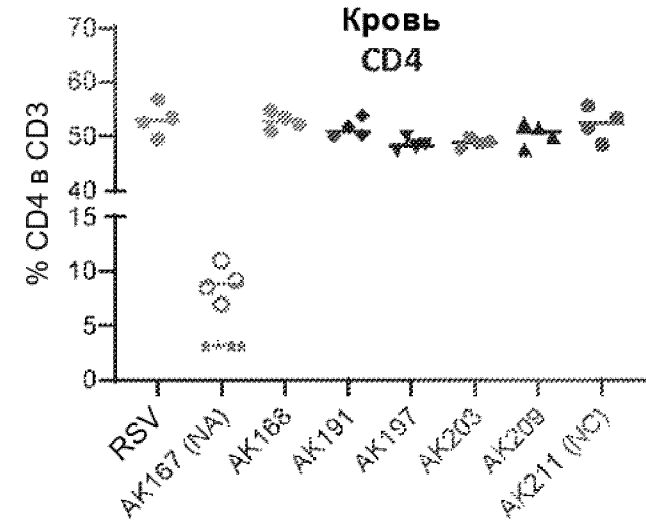
ФИГ. 26D



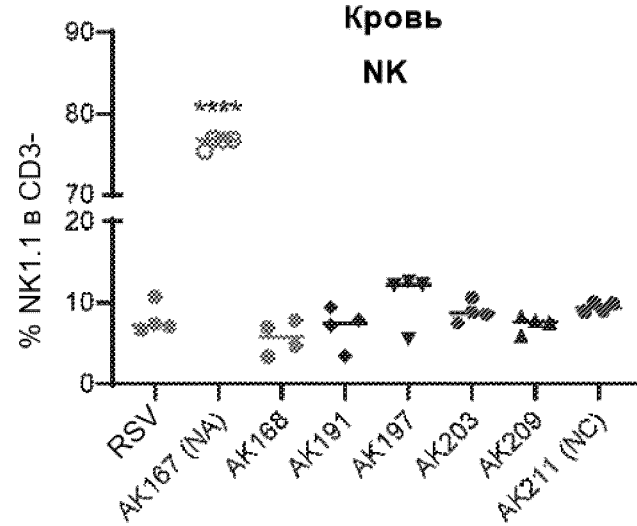
ФИГ. 26Е



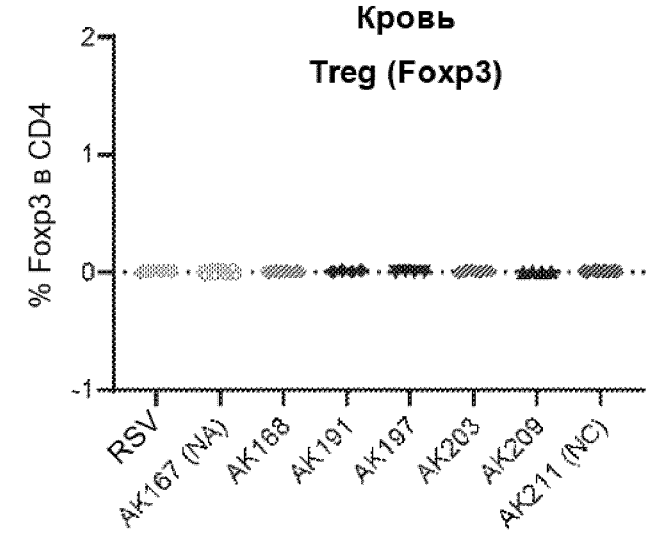
ФИГ. 26F



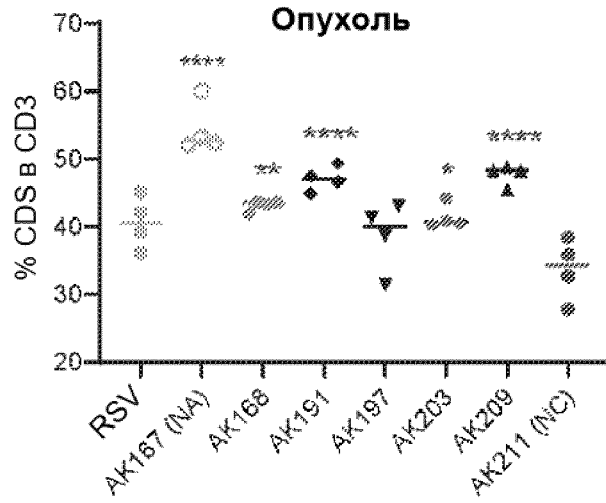
ФИГ. 26G



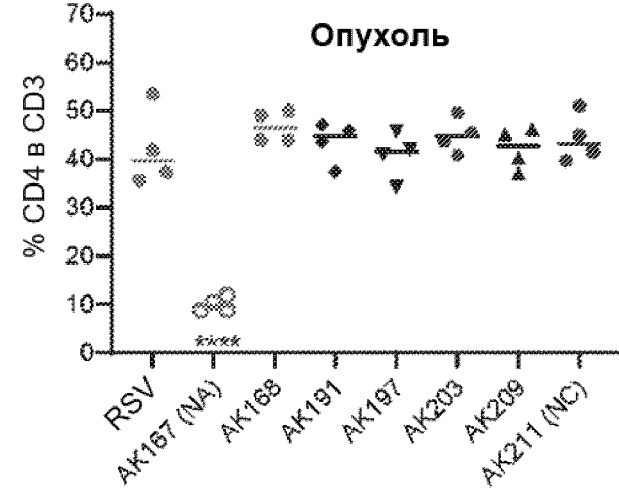
ФИГ. 26H



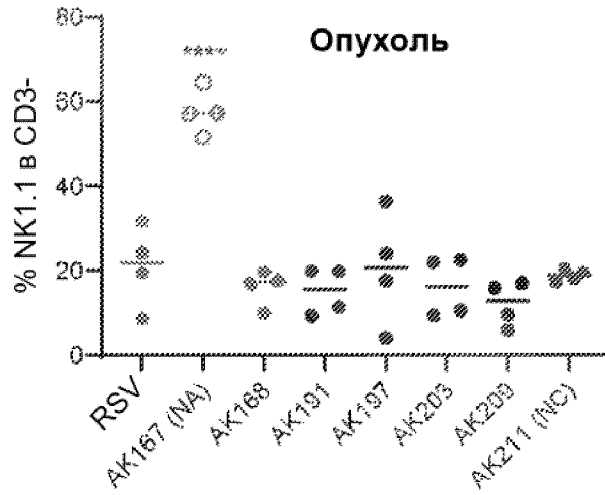
ФИГ. 26I



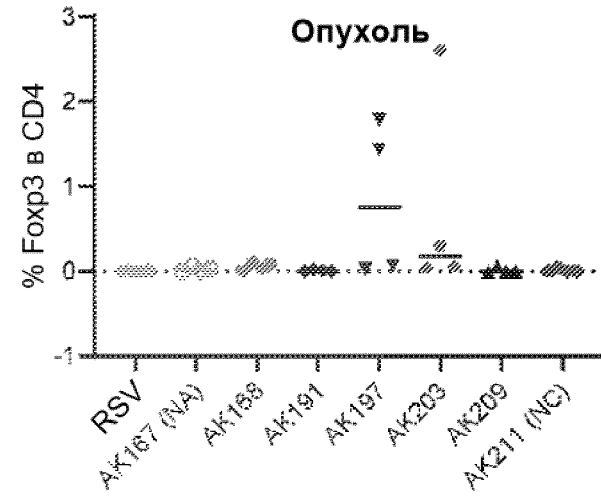
ФИГ. 26J



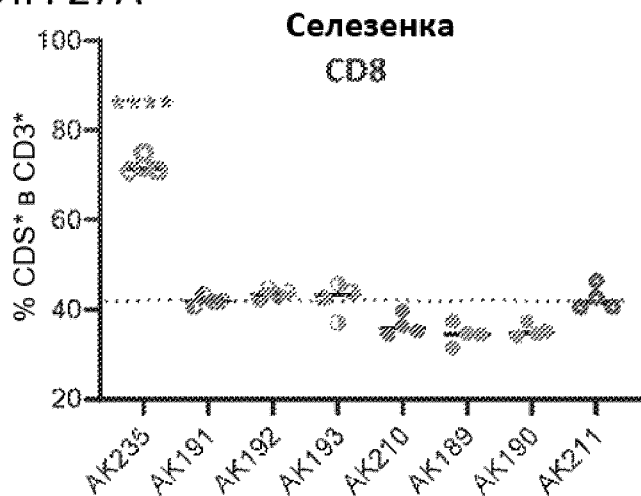
ФИГ. 26K



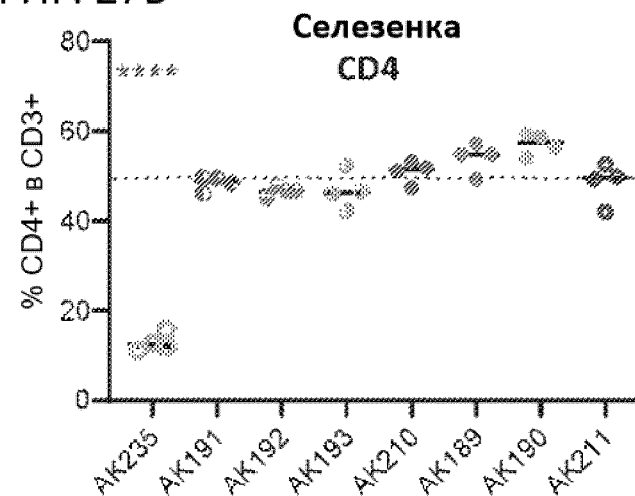
ФИГ. 26L



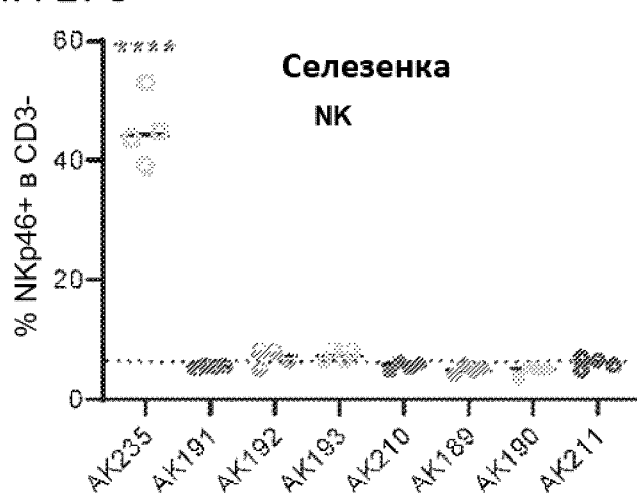
ФИГ. 27А



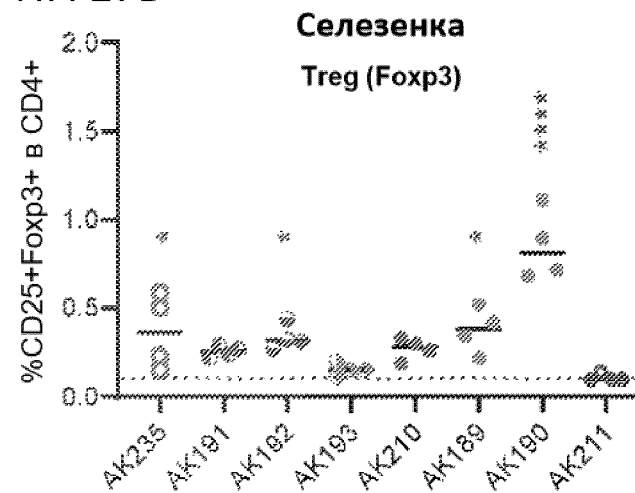
ФИГ. 27В



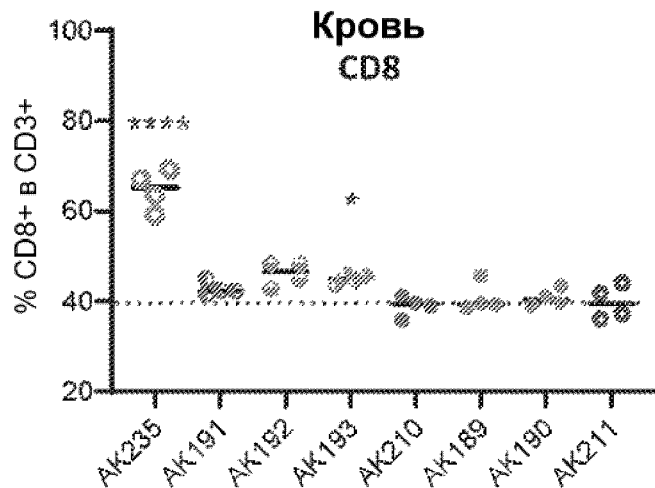
ФИГ. 27С



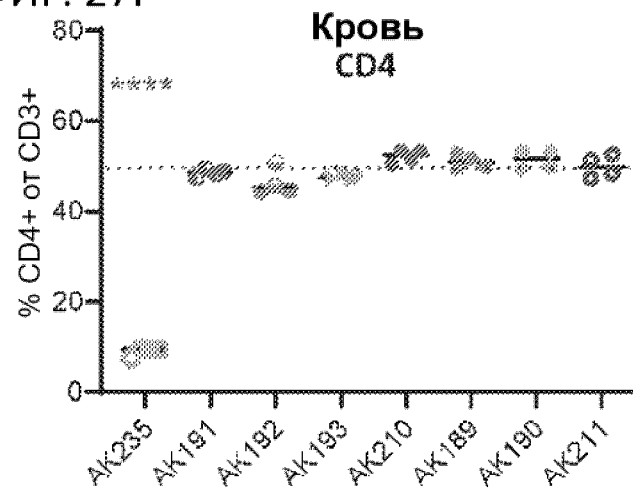
ФИГ. 27D



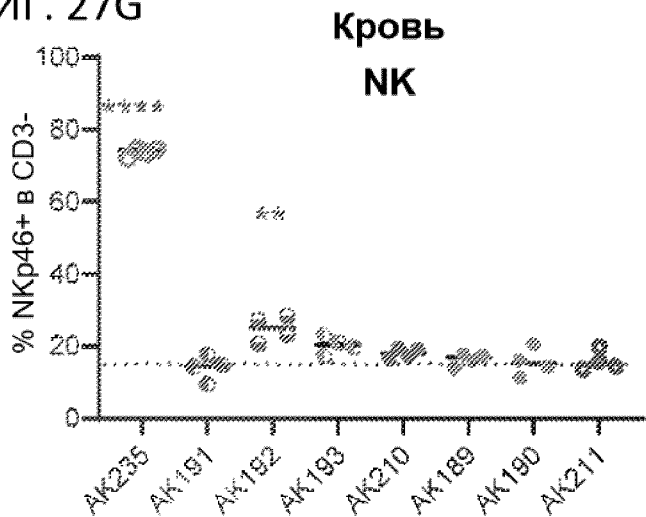
ФИГ. 27Е



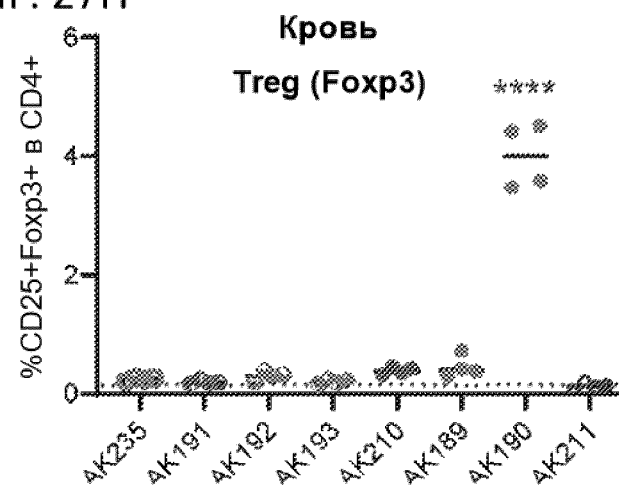
ФИГ. 27F



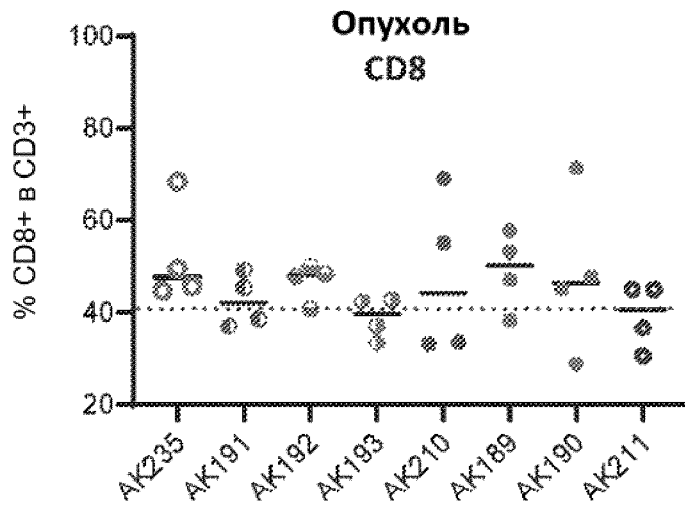
ФИГ. 27G



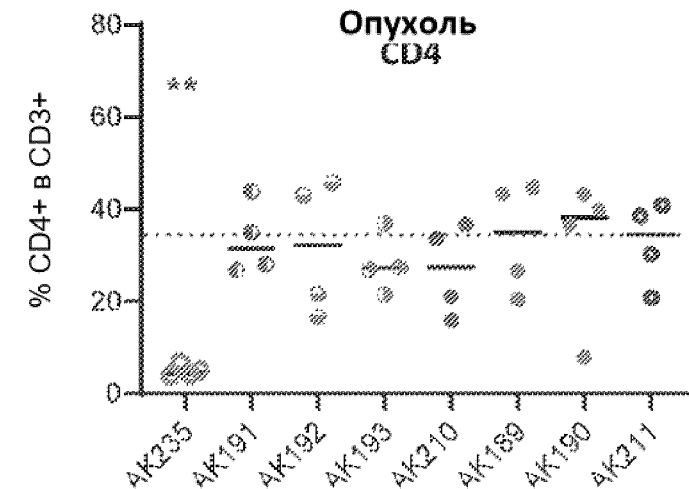
ФИГ. 27H



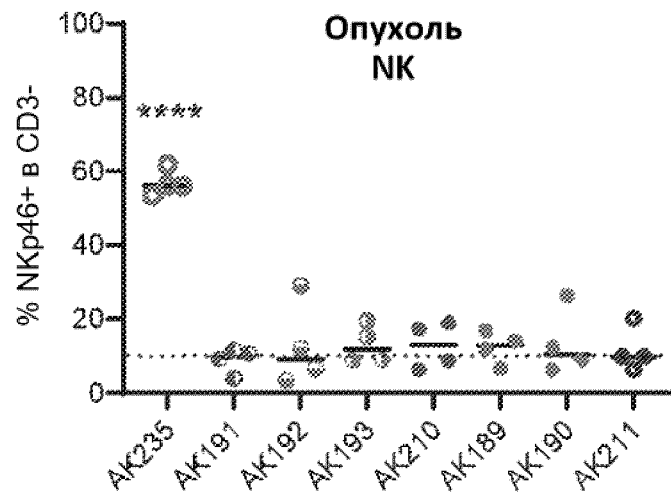
ФИГ. 27I



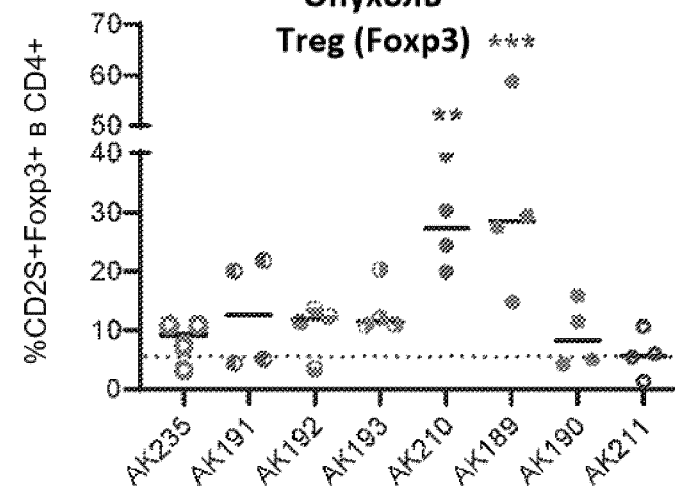
ФИГ. 27J



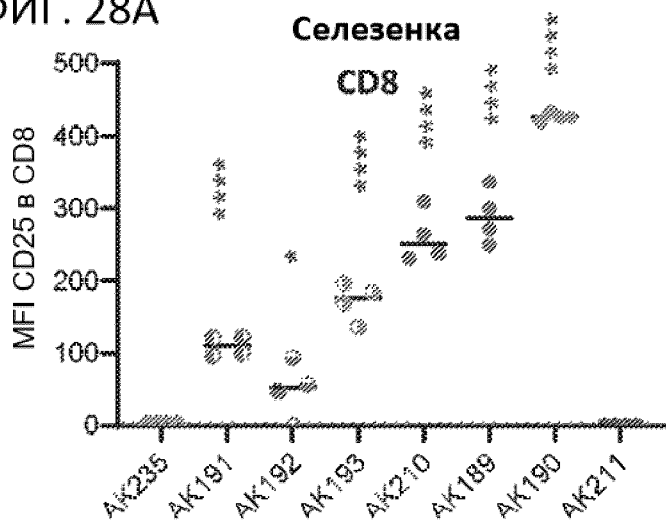
ФИГ. 27K



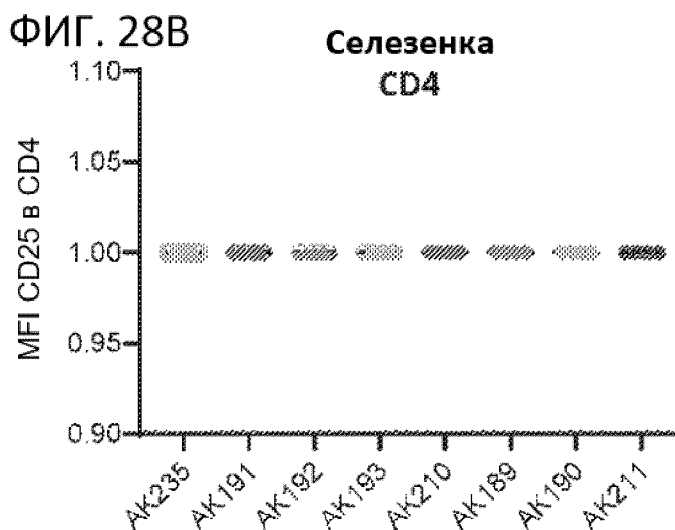
ФИГ. 27L



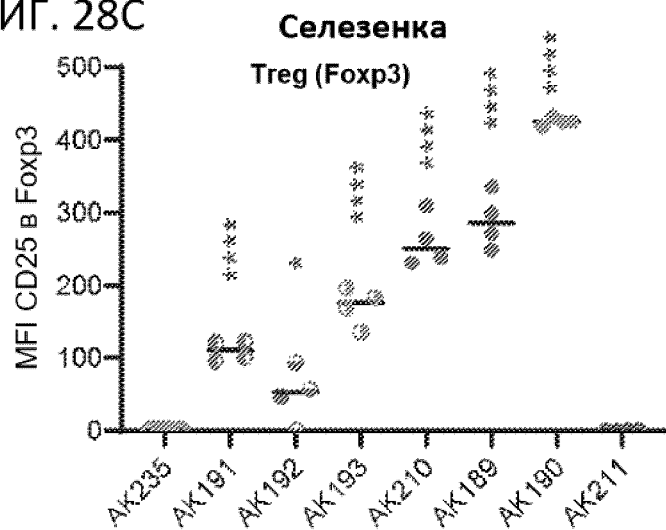
ФИГ. 28А



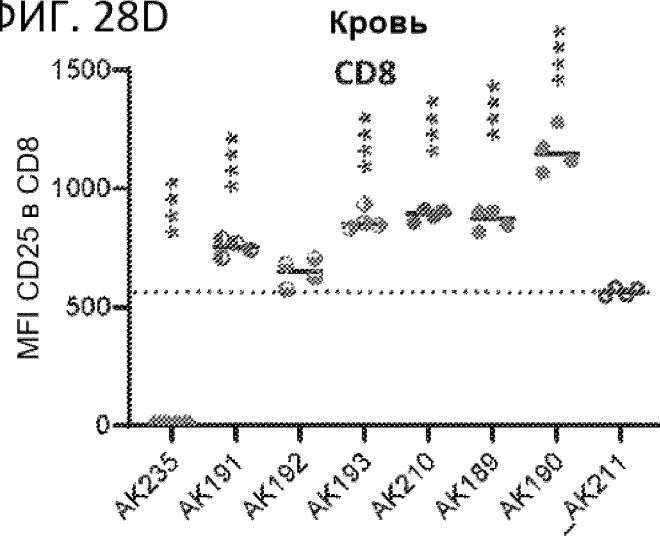
ФИГ. 28В



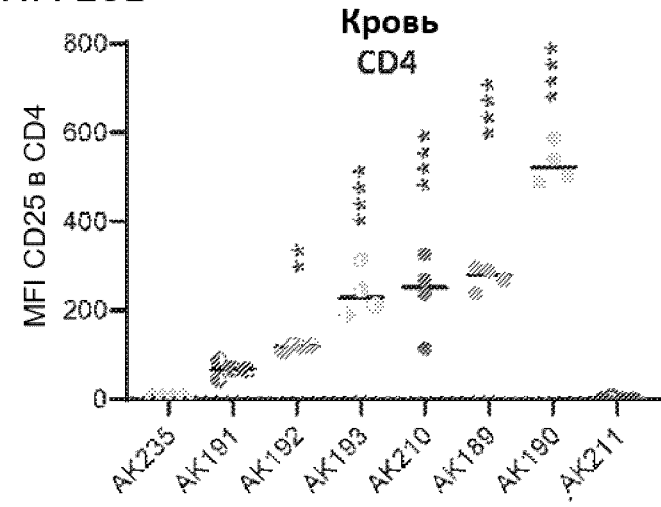
ФИГ. 28С



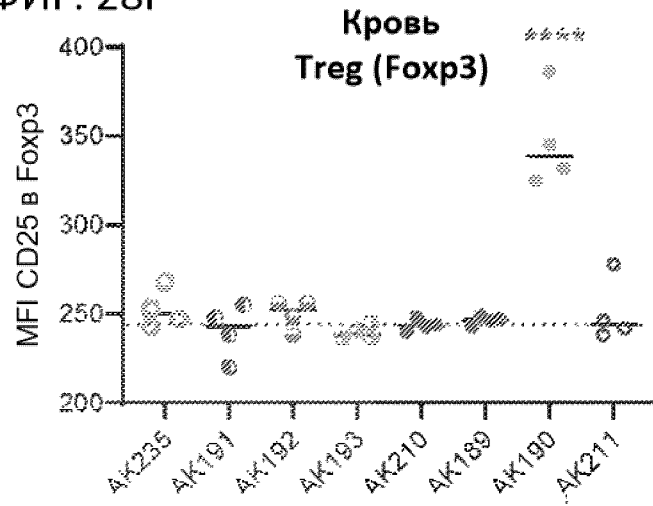
ФИГ. 28D



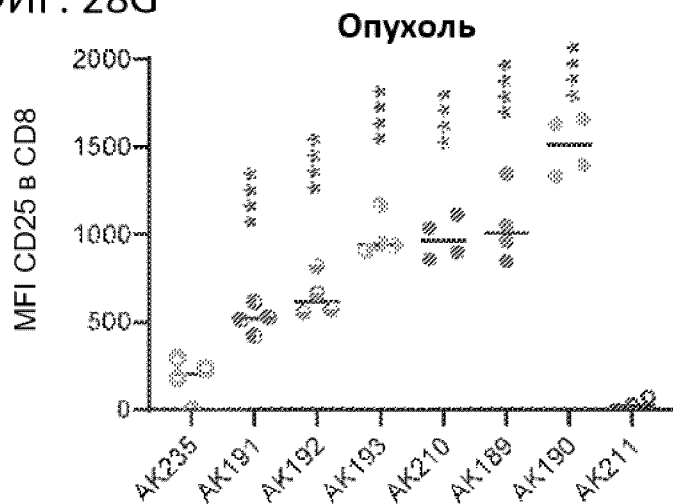
ФИГ. 28E



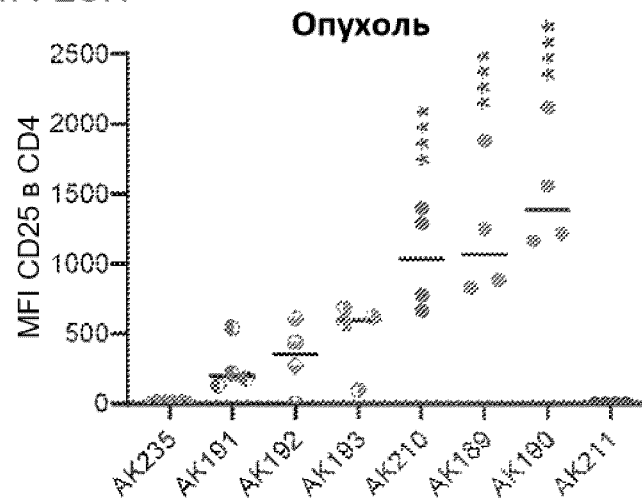
ФИГ. 28F



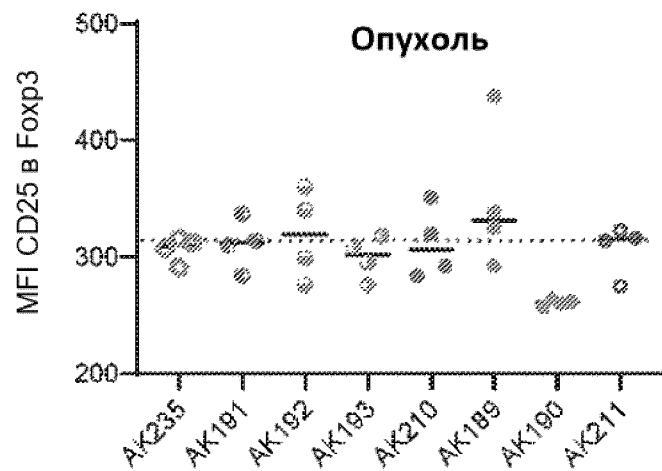
ФИГ. 28G

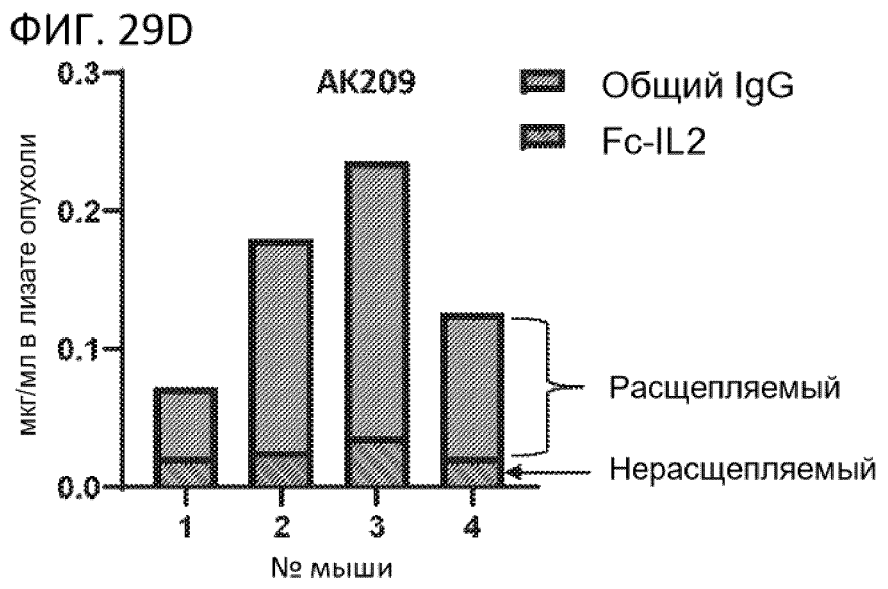
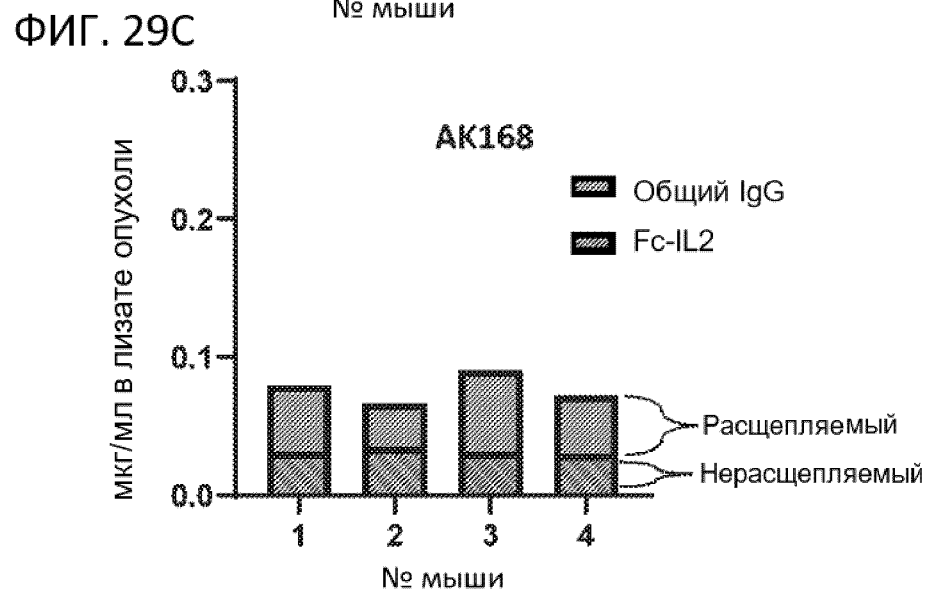
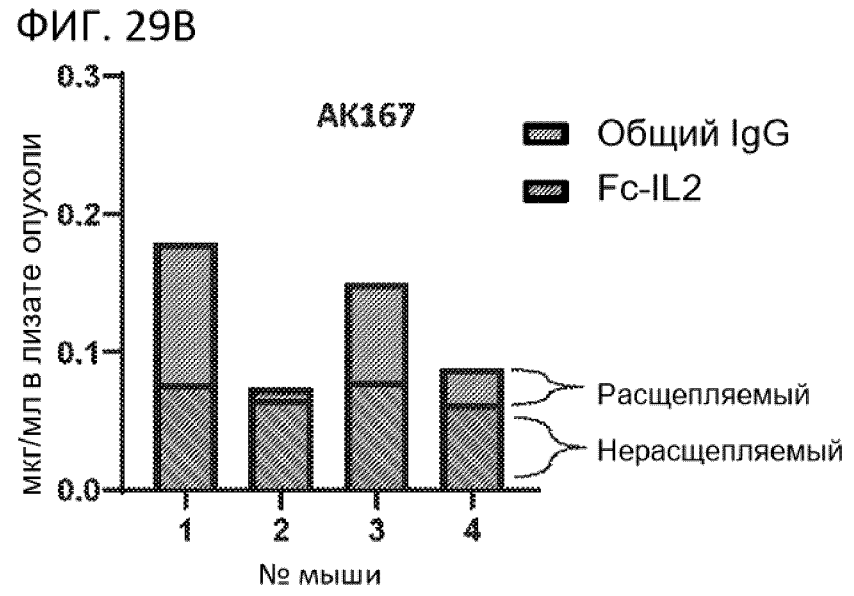
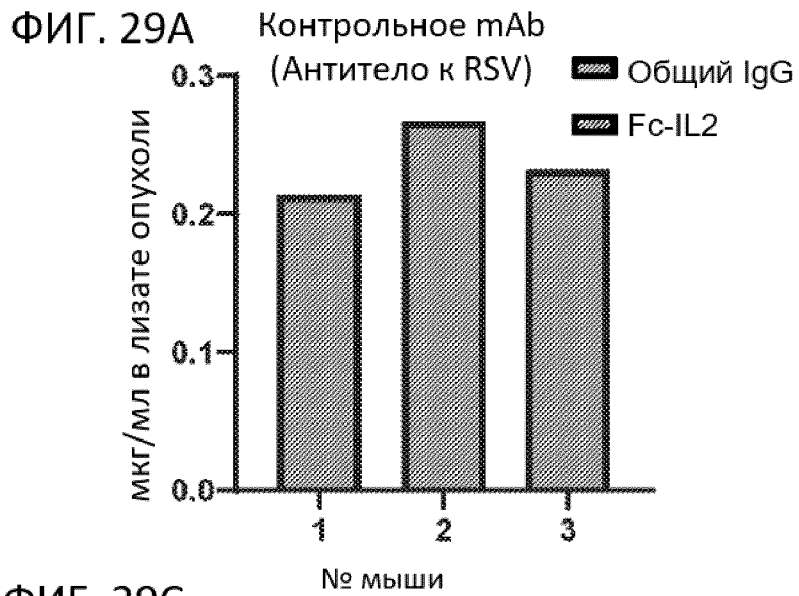


ФИГ. 28H

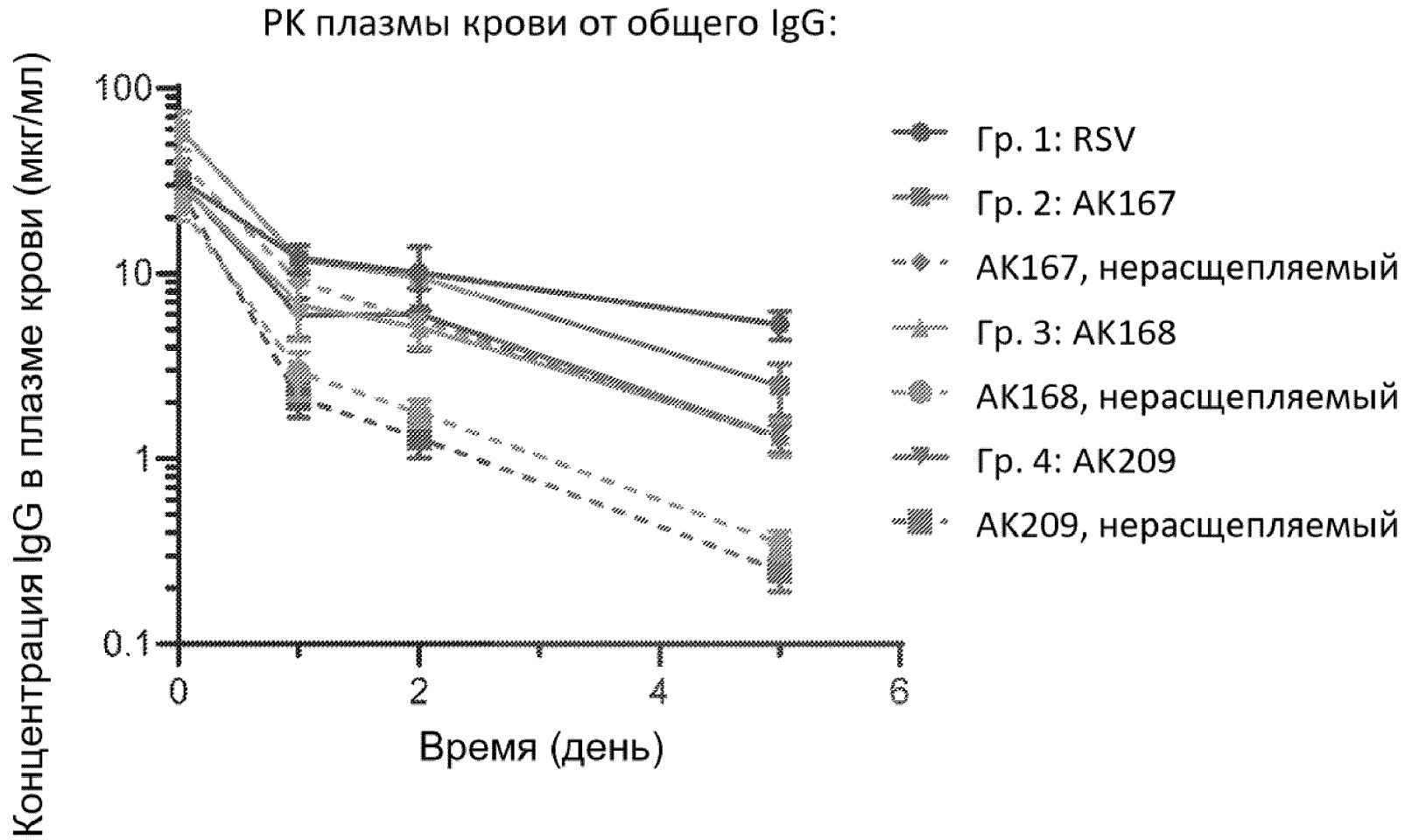


ФИГ. 28I

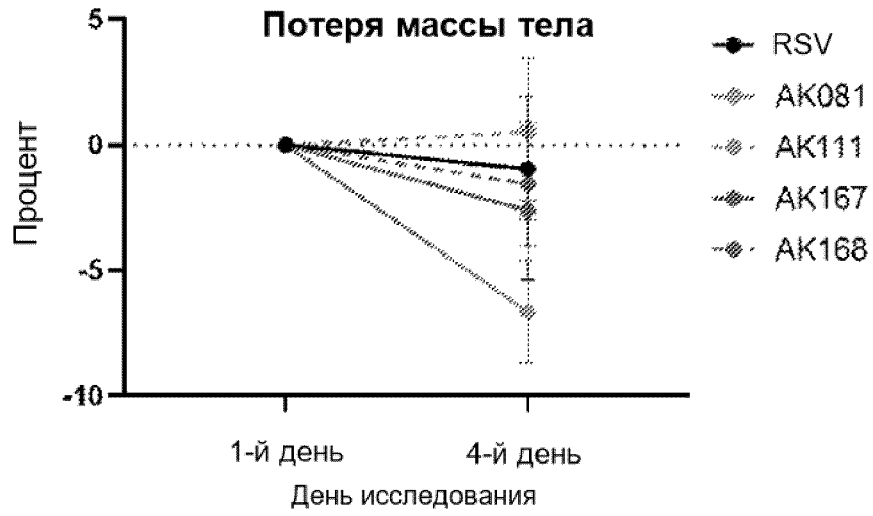




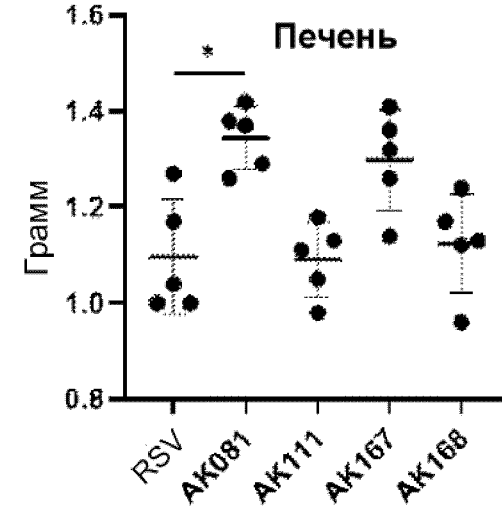
ФИГ. 29Е



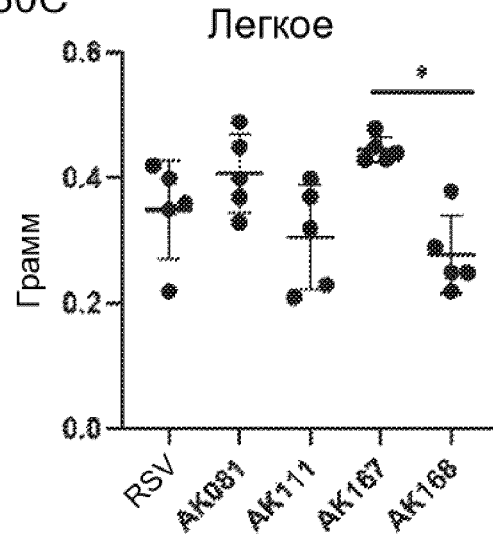
ФИГ. 30А



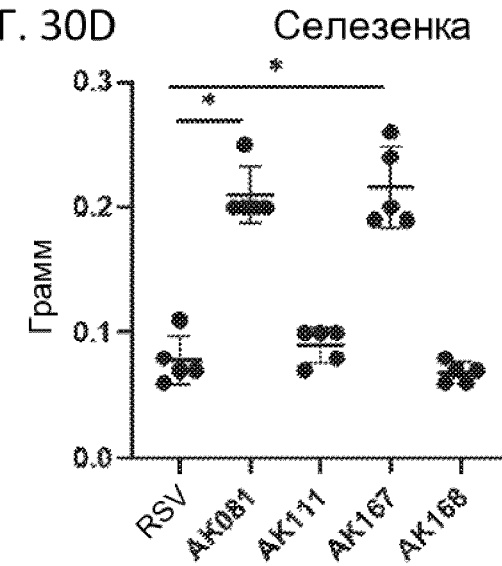
ФИГ. 30В



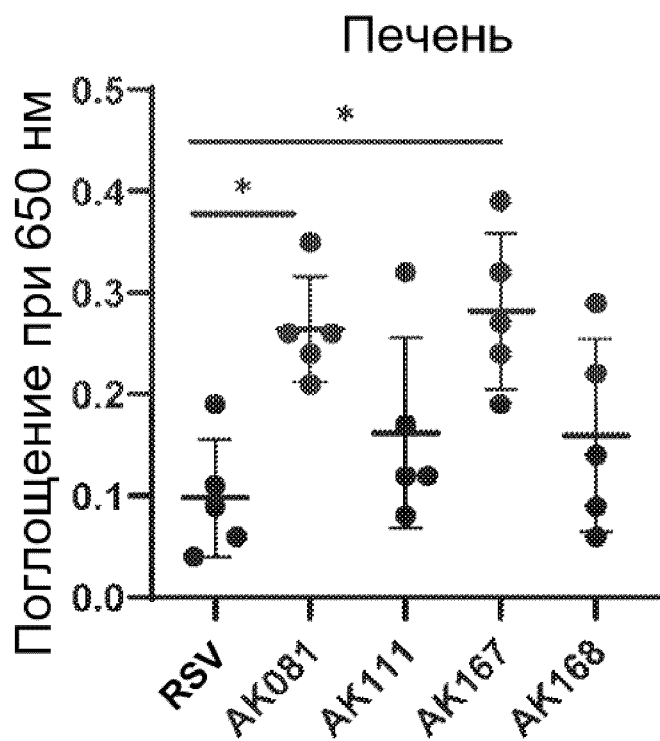
ФИГ. 30С



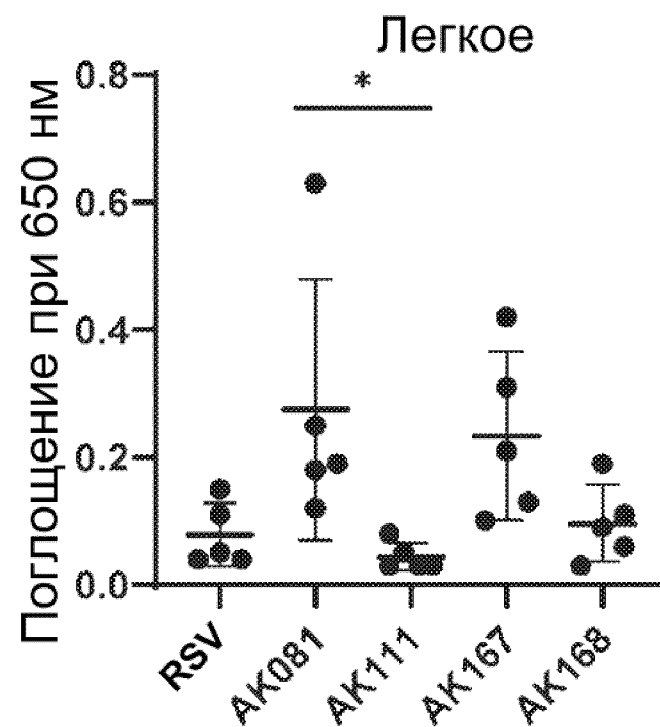
ФИГ. 30D



ФИГ. 31А



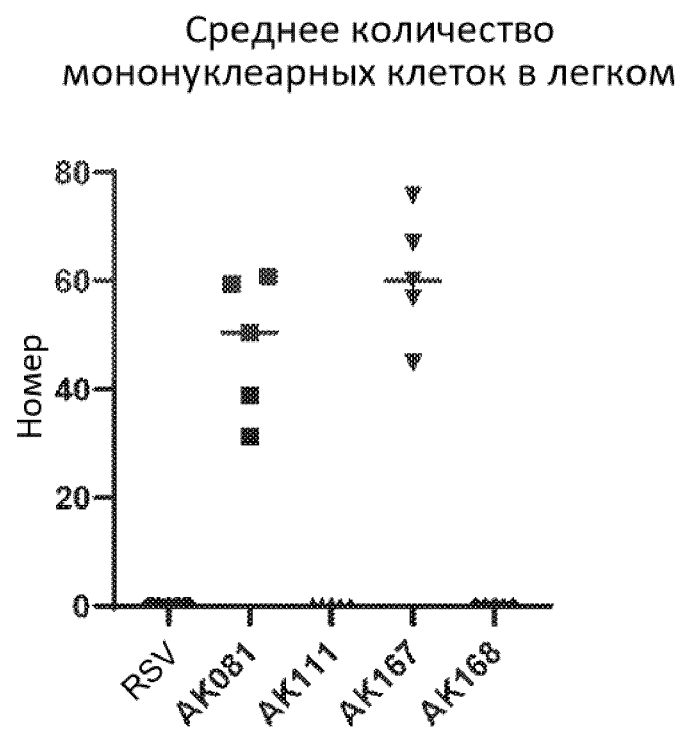
ФИГ. 31В



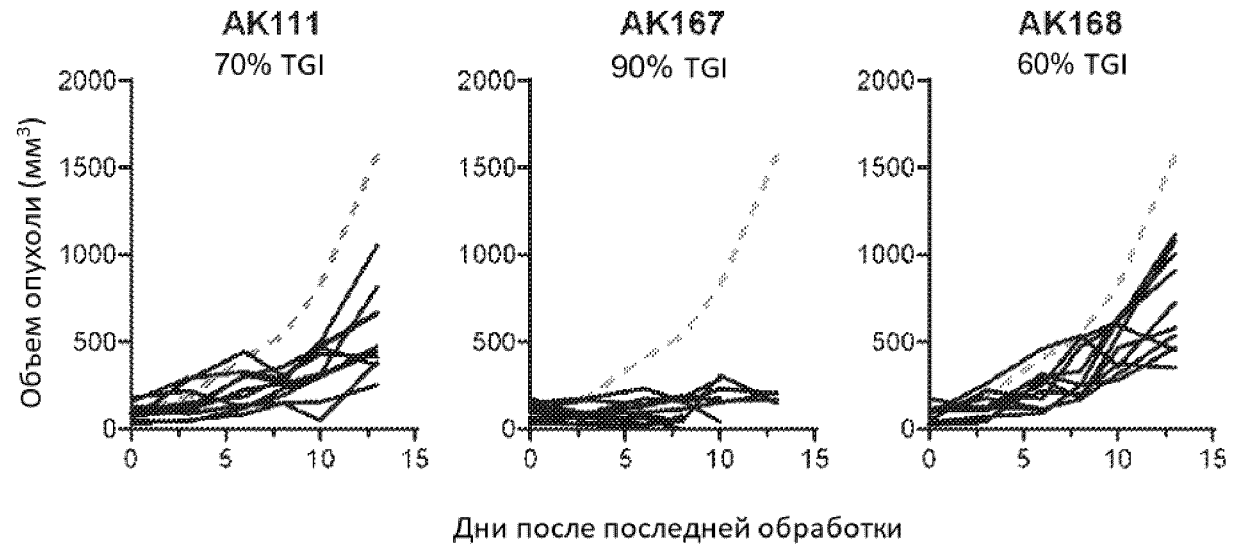
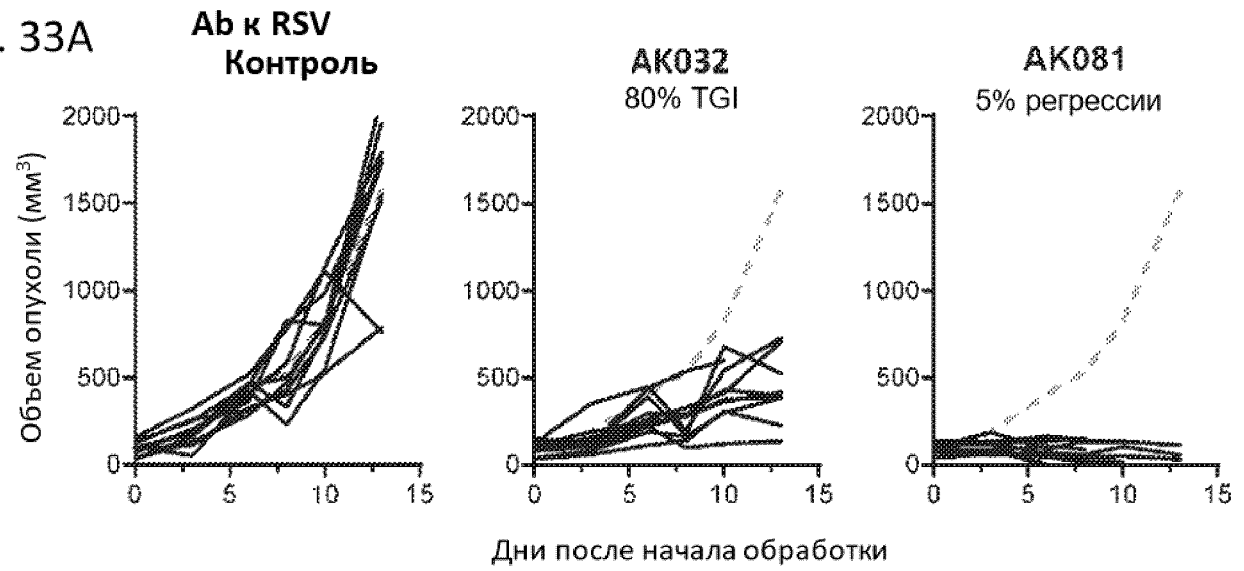
ФИГ. 32А



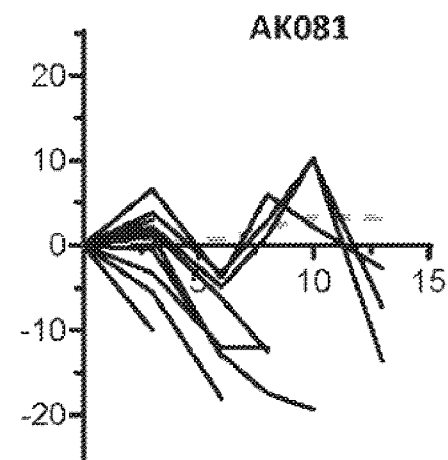
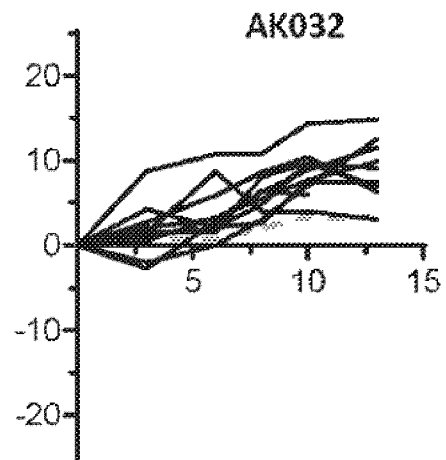
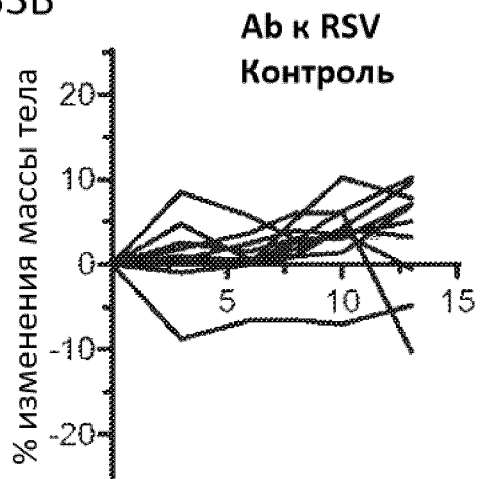
ФИГ. 32В



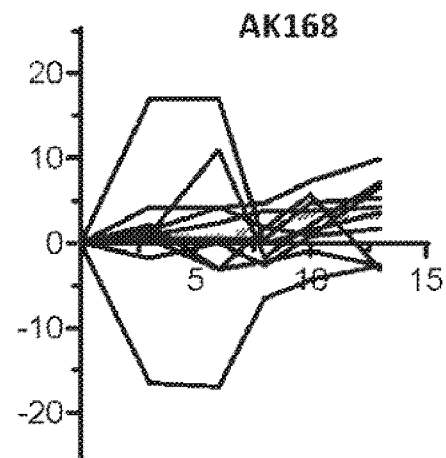
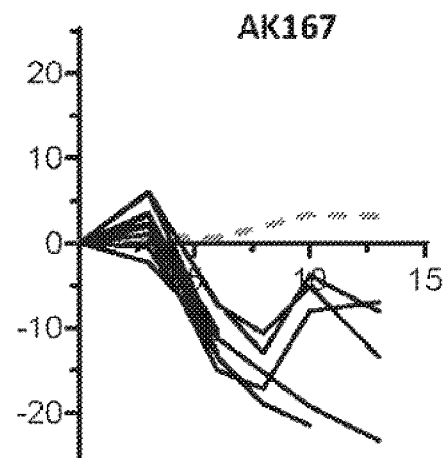
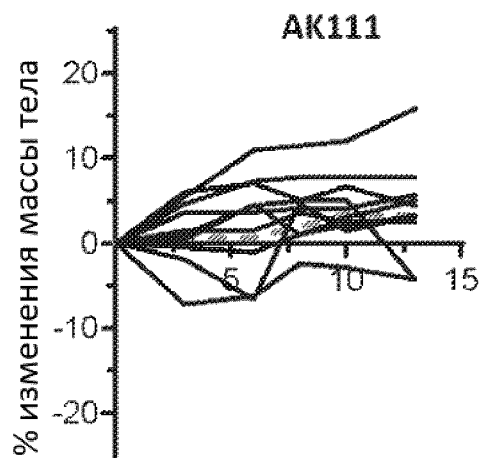
ФИГ. 33А



ФИГ. 33В



Дни после начала обработки



Дни после начала обработки