

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **039325**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.01.13

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)

(21) Номер заявки
201890336

(22) Дата подачи заявки
2016.08.01

(54) **КОНСТРУКЦИИ БИСПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ, СВЯЗЫВАЮЩИЕСЯ С ДПБЗ (DLL3) И КДЗ (CD3)**

(31) **62/199,930; 62/290,896**

(56) **WO-A2-2013126746**

(32) **2015.07.31; 2016.02.03**

WO-A1-2014125273

(33) **US**

WO-A2-2008119567

(43) **2018.06.29**

WO-A1-2016016859

(86) **PCT/EP2016/068285**

(87) **WO 2017/021349 2017.02.09**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЭМДЖЕН РИСЕРЧ (МЮНИК) ГМБХ
(DE)**

(72) Изобретатель:
**Раум Тобиас, Куфер Петер,
Пендциалек Йохен, Блюмель Клаудиа,
Дальхофф Кристоф, Хоффманн
Патрик, Луттербюзе Ральф, Нарвольд
Элизабет (DE)**

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

(57) Изобретение относится к конструкции биспецифического антитела, содержащей первый связывающий домен, который связывается с ДПБЗ (DLL3) человека на поверхности клетки-мишени, и второй связывающий домен, который связывается с КДЗ (CD3) человека на поверхности Т-клетки. Кроме того, в изобретении предложены полинуклеотид, кодирующий конструкцию антитела, вектор, содержащий указанный полинуклеотид, и клетка-хозяин, трансформированная или трансфектированная указанным полинуклеотидом или вектором. Дополнительно, в изобретении предложен способ получения конструкции антитела по изобретению, медицинское применение указанной конструкции антитела и набор, содержащий указанную конструкцию антитела.

039325
B1

039325
B1

Данное изобретение относится к конструкции биспецифического антитела, содержащей первый связывающий домен, который связывается с дельта-подобным белком 3, ДПБ3 (DLL3), человека на поверхности клетки-мишени, и второй связывающий домен, который связывается с кластером дифференциации 3, СД3 (CD3), человека на поверхности Т-клетки. Кроме того, в изобретении предложены полинуклеотид, кодирующий конструкцию антитела, вектор, содержащий указанный полинуклеотид, и клетка-хозяин, трансформированная или трансфектированная указанным полинуклеотидом или вектором. Кроме того, в изобретении предложен способ получения конструкции антитела по изобретению, медицинское применение указанной конструкции антитела и набор, содержащий указанную конструкцию антитела.

Мелкоклеточный рак легкого, SCLC, представляет собой агрессивную форму рака легкого с неблагоприятным прогнозом и ограниченными терапевтическими вариантами, которая составляет около 15% всех случаев впервые выявленных раковых заболеваний легкого, что равно около 25000 новых случаев в США и 180000 новых случаев заболевания в мире в год. Показатель выживаемости оставался низким в течение нескольких десятилетий, и только для 5% пациентов с SCLC продолжительность жизни составляла пять лет, в значительной степени из-за отсутствия новых методов борьбы с этой формой рака легкого. Большинство пациентов поступают в запущенной стадии болезни (с отдаленными метастазами), в то время как около трети пациентов поступают с локализованной стадией заболевания, что определяется по наличию опухолей только на одной стороне грудной клетки, которые при этом вписываются в одно поле облучения. Эти стадии определяют доступные терапевтические схемы, причем локализованную стадию заболевания лечат химиотерапией и облучением, а заболевание с отдаленными метастазами лечат только химиотерапией.

Диссеминированные метастатические опухоли с лимфома-подобными характеристиками являются отличительной чертой SCLC. Первый известный диагноз пациентов с SCLC описывал его как заболевание лимфатической системы, которое не было признано раком легкого до 1926 года, что указывает на некоторые из уникальных особенностей опухолей SCLC по сравнению с другими солидными опухолями.

Пациенты обычно хорошо отвечают на существующую терапию первой линии, которая включает этопозид и цисплатин, но с неизменно быстро возникающим рецидивом в форме химиорезистентного заболевания, для которого в данное время не существует доступных терапевтических вариантов. Прогноз на фоне трудно поддающегося лечению рецидива крайне неблагоприятный, с быстрым прогрессированием заболевания и медианой продолжительности жизни менее шести месяцев. Кроме того, пациентам с SCLC присущи высокие показатели сопутствующих заболеваний, включая гипертонию, заболевание сердца, диабет и паранеопластические синдромы. Они, в сочетании с типично пожилым возрастом пациентов с SCLC, влияют на способность пациентов переносить агрессивные схемы химиотерапии, что дополнительно ограничивает варианты лечения.

Форма биспецифического антитела, содержащего scFv, который распознает СД3 (CD3), экспрессируемый на Т-клетке, и еще один scFv, который распознает ассоциированный с опухолью антиген, показала многообещающую эффективность в клинике, с высокой частотой ответа при злокачественных заболеваниях системы крови, таких как трудно поддающийся лечению острый лимфобластный В-клеточный лейкоз, В-ОЛЛ (В-ALL) (Topp, M.S. et al. Blood, 2012. 120(26), p. 5185-5187), результатом чего стало одобрение Blincyto. Хотя эффективность применения терапевтических средств, активирующих Т-клетки, пока еще не продемонстрирована при показании в виде солидной опухоли, SCLC может представлять собой многообещающее показание в виде солидной опухоли для формы нацеленного биспецифического антитела против "СД3 (CD3)×опухоль", учитывая диссеминированный характер заболевания. Таким образом, биспецифический активатор Т-клеток, который нацеливает Т-клетки на конкретный опухолевый антиген, предоставляет новую возможность в качестве нового терапевтического варианта при лечении SCLC.

ДПБ3 (DLL3) в данное время идентифицирован как SCLC-специфический опухолевый антиген путем секвенирования нового поколения, при котором сравнивается распространенность мРНК ДПБ3 (DLL3) в панели первичных опухолей пациентов и большой коллекции нормальных тканей. Уровень экспрессии ДПБ3 (DLL3) в опухолях SCLC был умеренным, но широко распространенным, причем приблизительно 90% проанализированных опухолей демонстрировали доказательства экспрессии ДПБ3 (DLL3) при РНК-секвенировании. В отличие от опухолей SCLC, нормальные ткани проявляли очень низкую экспрессию транскрипта ДПБ3 (DLL3), при этом небольшие уровни обнаружены в яичках, зрительном нерве и мозжечке. Сравнение клеточных линий и опухолей SCLC при помощи РНК-секвенирования показало сходные уровни экспрессии, в то время как количественное определение экспрессии ДПБ3 (DLL3) на клеточной поверхности в клеточных линиях SCLC показало уровни экспрессии ниже 5000 ДПБ3 (DLL3)/клетку, с типичными уровнями экспрессии ниже 2000 ДПБ3 (DLL3)/клетку. Экспрессия белка ДПБ3 (DLL3) была подтверждена иммуногистохимически, (ИНС), при этом 86% опухолей SCLC показали положительное окрашивание для ДПБ3 (DLL3) с гомогенным и мембранным характером окрашивания. Помимо очень слабого окрашивания в мозжечке, все другие нормальные ткани были отрицательными при окрашивании на ДПБ3 (DLL3).

ДПБ3 (DLL3) является неканоническим лигандом сложного локуса Notch, который функционирует

в автономном от клеток режиме, ингибируя передачу сигнала Notch, связываясь с Notch в режиме *cis* (внутримолекулярно), тем самым блокируя межклеточное взаимодействие и интернализацию Notch клеткой-мишенью, что является отличительным признаком канонической передачи сигнала Notch. Основная роль ДПБЗ (DLL3) заключается в сомитогенезе во время эмбрионального развития. Мыши с нокаутом ДПБЗ (DLL3) демонстрируют сегментные дефекты в осевом скелете и развитии черепа и нейронов. Кроме того, соматические дефекты формирования наблюдаются у людей с определенными мутациями ДПБЗ (DLL3) зародышевой линии, что приводит к состоянию под названием спондилококостальный дизостоз.

ДПБЗ (DLL3) ранее был предложен в способах диагностики и лечения глиомы, в дополнение к SCLC, с применением конъюгата антитело-лекарственное средство, ADC (WO 2013/126746). Применение

ADC-подхода в отношении ДПБЗ (DLL3) может иметь ограничения, учитывая низкие уровни экспрессии белка на поверхности клетки и снижение эффективности ADC, когда речь идет о мишенях с низкой экспрессией. Кроме того, молекулы ADC часто демонстрируют токсичность, связанную со "свободной боеголовкой" (*free warhead*), вероятно, в результате деградации линкера, что приводит к ограничению максимально переносимой дозы и потенциальному влиянию на эффективность, не связанному с мишенью, выбранной для антитела. Это с меньшей вероятностью станет проблемой для биспецифической молекулы, активирующей Т-клетки, которая сконструирована для одновременного взаимодействия с ДПБЗ (DLL3) и СДЗ (CD3), с учетом требуемой чувствительности Т-клеток к их мишеням, а высокоактивная цитотоксичность *in vitro* продемонстрирована на клеточных линиях, экспрессирующих несколько сотен белков-мишеней на клетку. Кроме того, размер конструкции биспецифического антитела, активирующего Т-клетки, обычно меньше по сравнению с нормальным антителом (полноразмерный IgG), что может улучшить проникновение в ткани и повысить активность благодаря более эффективному взаимодействию с мишенями ДПБЗ (DLL3) и СДЗ (CD3), что приводит к улучшению образования синапсов между Т-клеткой и опухолевой клеткой-мишенью.

SCLC остается значимой неудовлетворенной медицинской потребностью, и для улучшения перспектив этой значительной популяции пациентов требуются новые терапевтические варианты. Вышеописанная форма биспецифического антитела клинически валидирована, и, таким образом, конструкция антитела, нацеленного на ДПБЗ (DLL3) и СДЗ (CD3), представляет собой многообещающую новую возможность для лечения SCLC и возможность улучшить выживаемость пациентов, страдающих этим показанием. Поскольку по-прежнему существует потребность в дополнительных доступных вариантах лечения опухолевых или онкологических заболеваний, связанных с избыточной экспрессией ДПБЗ (DLL3), в данном изобретении предложены средства и способы решения этой проблемы в форме конструкции биспецифического антитела с одним связывающим доменом, направленным на ДПБЗ (DLL3), и вторым связывающим доменом, направленным на СДЗ (CD3) на Т-клетке.

Таким образом, в первом аспекте данное изобретение относится к конструкции биспецифического антитела, содержащей первый связывающий домен, который связывается с ДПБЗ (DLL3) человека на поверхности клетки-мишени, и второй связывающий домен, который связывается с СДЗ (CD3) человека на поверхности Т-клетки, причем первый связывающий домен связывается с эпитопом ДПБЗ (DLL3), который находится внутри участка, как показано в SEQ ID NO: 260.

Следует отметить, что, как используется в данном документе, формы единственного числа включают в себя ссылки на множественное число, если обратное прямо не указано в тексте. Так, например, ссылка на "реагент" включает один или большее количество таких различных реагентов, а ссылка на "способ" включает ссылку на эквивалентные стадии и способы, известные специалистам в данной области техники, которые могут быть модифицированы или заменены способами, описанными в данном изобретении.

Если обратное прямо не указано в тексте, термин "по меньшей мере", предшествующий ряду элементов, следует понимать как относящийся к каждому элементу ряда. Специалисты в данной области техники распознают или смогут установить, с применением не более чем шаблонных экспериментов, многие эквиваленты конкретных вариантов осуществления изобретения, описанных в данном документе. Такие эквиваленты включены в данное изобретение.

Термин "и/или" везде, где он используется, включает в себя значение "и", "или" и "все или любая другая комбинация элементов, связанных указанным термином".

Используемый в данном изобретении термин "около" или "приблизительно" означает в пределах $\pm 20\%$, предпочтительно в пределах $\pm 15\%$, более предпочтительно в пределах $\pm 10\%$ и наиболее предпочтительно в пределах $\pm 5\%$ от заданного значения или диапазона.

Во всех местах данного документа и последующей формулы изобретения, если обратное прямо не указано в тексте, слово "содержать" и вариации, такие как "содержит" и "содержащий", следует понимать как включающие указанное целое число или стадию или группу целых чисел или стадий, но не включающее любое другое целое число или стадию или группу целых чисел или стадий. При использовании в данном документе термин "содержащий" может быть заменен термином "в том числе" или "вклю-

чающий" или иногда, когда он используется в данном изобретении, термином "обладающий".

При использовании в данном документе "состоящий из" исключает любой элемент, стадию или ингредиент, не указанные в пункте формулы. При использовании в данном документе термин "по существу состоящий из" не исключает материалов или стадий, которые не оказывают существенного влияния на основные и новые признаки пункта формулы.

В каждом случае в данном документе любой из терминов "содержащий", "по существу состоящий из" и "состоящий из" может быть заменен любым из двух других терминов.

Термин "конструкция антитела" относится к молекуле, в которой структура и/или функция основана(ы) на структуре и/или функции антитела, например, полноразмерной или цельной молекуле иммуноглобулина. Таким образом, конструкция антитела способна связываться с ее специфической мишенью или антигеном. Кроме того, конструкция антитела в соответствии с изобретением содержит минимальные структурные требования к антителу, которые позволяют связывание с мишенью. Это минимальное требование может быть, например, определено наличием по меньшей мере трех участков, определяющих комплементарность (CDR), легкой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 области VL) и/или трех CDR тяжелой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 области VH), предпочтительно всех шести CDR. Антитела, на которых основаны конструкции в соответствии с изобретением, включают в себя, например, моноклональные, рекомбинантные, химерные, деиммунизированные, гуманизированные и человеческие антитела.

В определение "конструкций антител" в соответствии с изобретением включены полноразмерные или цельные антитела, включая также антитела верблюдовых и другие иммуноглобулиновые антитела, полученные биотехнологическими методами или способами или методами или способами инженерии белка. Эти полноразмерные антитела могут представлять собой, например, моноклональные, рекомбинантные, химерные, деиммунизированные, гуманизированные и человеческие антитела. Кроме того, в определение "конструкций антител" включены фрагменты полноразмерных антител, такие как VH, VHH, VL, (s)dAb, Fv, Fd, Fab, Fab', F(ab')₂ или "rIgG" ("полуантитело"). Кроме того, конструкции антител в соответствии с изобретением могут представлять собой модифицированные фрагменты антител, которые также называют вариантами антител, такие как scFv, di-scFv или bi(s)-scFv, scFv-Fc, scFv-зиппер, scFab, Fab₂, Fab₃, диатела, одноцепочечные диатела, tandemные диатела (Tandab), tandemные di-scFv, "мини-антитела", типичная структура которых выглядит следующим образом: (VH-VL-CH₃)₂, (scFv-CH₃)₂, ((scFv)₂-CH₃+CH₃), ((scFv)₂-CH₃) или (scFv-CH₃-scFv)₂, мультитела, такие как триатела или тетраатела, и однодоменные антитела, такие как нанотела или антитела с одним варибельным доменом, содержащие только один варибельный домен, который может представлять собой VHH, VH или VL, которые специфически связываются с антигеном или эпитопом независимо от других V-участков или доменов. Другими предпочтительными форматами конструкций антител в соответствии с изобретением являются кросстела, макситела, гетеро-Fc конструкции и моно-Fc конструкции. Примеры этих форматов будут приведены в данном документе ниже.

Связывающий домен обычно может содержать варибельный участок легкой цепи антитела (VL) и варибельный участок тяжелой цепи антитела (VH); однако он не должен содержать оба. Фрагменты Fd, например, содержат два участка VH и часто сохраняют некоторую антигенсвязывающую функцию интактного антигенсвязывающего домена. Дополнительные примеры формата фрагментов антител, вариантов антител или связывающих доменов включают в себя (1) фрагмент Fab, одновалентный фрагмент, содержащий домены VL, VH, CL и CH1; (2) фрагмент F(ab')₂, двухвалентный фрагмент, содержащий два Fab-фрагмента, соединенных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (3) фрагмент Fd, содержащий два домена VH и CH1; (4) фрагмент Fv, содержащий домены VL и VH одного плеча антитела; (5) фрагмент dAb (Ward et al., (1989), Nature, 341:544-546), который содержит домен VH; (6) выделенный участок, определяющий комплементарность (CDR); и (7) одноцепочечный Fv (scFv), причем последний является предпочтительным (например, полученный из библиотеки scFv). Примеры вариантов конструкций антител в соответствии с изобретением описаны, например, в WO 00/006605, WO 2005/040220, WO 2008/119567, WO 2010/037838, WO 2013/026837, WO 2013/026833, US 2014/0308285, US 2014/0302037, WO 2014/144722, WO 2014/151910 и WO 2015/048272.

Кроме того, определение термина "конструкция антитела" включает одновалентные, двухвалентные и поливалентные/мультивалентные конструкции и, таким образом, моноспецифические конструкции, специфически связывающиеся только с одной антигенной структурой, а также биспецифические и полиспецифические/мультиспецифические конструкции, которые специфически связываются более чем с одной антигенной структурой, например двумя, тремя или более, посредством различных связывающих доменов. Более того, определение термина "конструкция антитела" включает в себя молекулы, состоящие только из одной полипептидной цепи, а также молекулы, состоящие более чем из одной полипептидной цепи, причем цепи могут быть идентичными (гомодимеры, гомотримеры или гомогенные олигомеры) или разными (гетеродимер, гетеротример или гетероолигомер). Примеры вышеуказанных идентифицированных антител и их вариантов или их производных описаны, среди прочего, в Harlow and Lane, *Antibodies a laboratory manual*, CSHL Press (1988) и *Using Antibodies: a laboratory manual*, CSHL Press (1999), Kontermann and Dübel, *Antibody Engineering*, Springer, 2nd ed. 2010, и Little, *Recombinant Antibodies for Immunotherapy*, Cambridge University Press 2009.

Конструкции антител по данному изобретению предпочтительно представляют собой "конструкции антител, полученные *in vitro*". Этот термин относится к конструкции антитела в соответствии с вышеприведенным определением, в которой весь или часть варибельного участка (например, по меньшей мере один CDR) получена путем селекции в неиммунной клетке, например фаговый дисплей *in vitro*, белковый чип или любой другой способ, в котором потенциальные последовательности могут быть испытаны на их способность связываться с антигеном. Таким образом, этот термин предпочтительно исключает последовательности, полученные исключительно геномной перегруппировкой в иммунной клетке животного. "Рекомбинантное антитело" представляет собой антитело, полученное с применением технологии рекомбинантной ДНК или геной инженерии.

Термин "моноклональное антитело" (mAb) или конструкция моноклонального антитела, как используется в данном документе, относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т.е. составляющие популяцию отдельные антитела являются идентичными, за исключением возможных естественных мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидирования), которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифичными, будучи направленными против одного антигенного сайта или детерминанты на антигене, в отличие от обычных (поликлональных) антител, которые обычно включают в себя различные антитела, направленные против различных детерминант (или эпитопов). В дополнение к их специфичности моноклональные антитела выгодны тем, что они синтезируются гибридной культурой, поэтому не загрязнены другими иммуноглобулинами. Модификатор "моноклональный" указывает на характер антитела, как полученного по существу из гомогенной популяции антител, и его не следует истолковывать как требующий получения антитела каким-либо конкретным способом.

Для получения моноклональных антител можно применять любую технологию, обеспечивающую антитела, вырабатываемые непрерывными культурами клеточных линий. Например, моноклональные антитела для применения могут быть получены при помощи метода гибридомы, впервые описанного Koehler et al., *Nature*, 256:495 (1975), или могут быть получены методами рекомбинантной ДНК (см., например, патент США № 4816567). Примеры дополнительных технологий получения человеческих моноклональных антител включают в себя метод триомы, метод гибридомы В-клеток человека (Kozbor, *Immunology Today*, 4(1983), 72) и метод гибридомы вируса Эпштейна-Барр, ВЭБ (EBV)-гибридомы (Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc. (1985), 77-96).

В дальнейшем гибридомы могут быть подвергнуты скринингу с применением стандартных методов, таких как твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) и анализ методом поверхностного плазмонного резонанса (BIAcore™), для идентификации одной или большего количества гибридом, которые вырабатывают антитело, специфически связывающееся с указанным антигеном. В качестве иммуногена можно применять любую форму соответствующего антигена, например рекомбинантный антиген, природные формы, любые их варианты или фрагменты, а также их антигенный пептид. Поверхностный плазмонный резонанс, применяемый в системе BIAcore, может быть применен для повышения эффективности фаговых антител, которые связываются с эпитопом целевого антигена, такого как ДПБЗ (DLL3) или CD3 (CD3)-ипсилон (Schier, *Human Antibodies Hybridomas*, 7 (1996), 97-105; Malmborg, *J. Immunol. Methods*, 183 (1995), 7-13).

Другой типичный способ получения моноклональных антител включает в себя скрининговые библиотеки экспрессии белка, например фаговый дисплей или библиотеки рибосомного дисплея. Фаговый дисплей описан, например, в Ladner et al., патент США № 5223409; Smith (1985), *Science*, 228:1315-1317, Clackson et al., *Nature*, 352:624-628 (1991) и Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991).

В дополнение к применению библиотек дисплея соответствующий антиген может быть применен для иммунизации животного, не относящегося к человеку, например грызуна (такого как мышь, хомяк, кролик или крыса). В одном варианте осуществления изобретения животное, не относящееся к человеку, включает в себя по меньшей мере часть гена человеческого иммуноглобулина. Например, можно сконструировать породы мышей с недостаточностью выработки мышинных антител, с большими фрагментами локусов Ig (иммуноглобулина) человека. С применением технологии гибридомы можно получать и отбирать антигенспецифические моноклональные антитела, полученные из генов с желаемой специфичностью. См., например, XENOMOUSE™, Green et al. (1994), *Nature Genetics*, 7:13-21, US 2003-0070185, WO 96/34096 и WO 96/33735.

Моноклональное антитело также может быть получено из организма животного, не относящегося к человеку, а затем модифицировано, например гуманизировано, деиммунизировано, сделано химерным и т.д., с применением технологий рекомбинантной ДНК, известных в данной области техники. Примеры модифицированных конструкций антител включают в себя гуманизированные варианты антител, не относящихся к человеку, антитела "с созревшей аффинностью" (см., например, Hawkins et al., *J. Mol. Biol.*, 254, 889-896 (1992) и Lowman et al. *Biochemistry*, 30, 10832-10837 (1991)) и антитела-мутанты с модифицированной(ыми) эффекторной(ыми) функцией(ями) (см., например, патент США 5648260, Kontermann and Dübel (2010), в приводившейся выше цитате, и Little (2009), в приводившейся выше цитате).

В иммунологии созревание аффинности представляет собой процесс, при помощи которого

В-клетки вырабатывают антитела с повышенной аффинностью к антигену в ходе иммунного ответа. При повторном контакте с тем же антигеном хозяин будет вырабатывать антитела с последовательно более высокой аффинностью. Как и естественный прототип, созревание аффинности *in vitro* основано на принципах мутации и селекции. Созревание аффинности *in vitro* было успешно применено для оптимизации антител, конструкций антител и фрагментов антител. Случайные мутации внутри CDR вводят с применением излучения, химических мутагенов или ПЦР сниженной точности. Кроме того, генетическое разнообразие может быть увеличено путем перестановки цепей. Два или три раунда мутации и отбора с применением методов дисплея, таких как фаговый дисплей, обычно дают фрагменты антител с аффинностью в области низких наномолярных значений.

Предпочтительный тип получения вариантов с заменой аминокислот для конструкций антител включает в себя замену одного или большего количества остатков гиперварибельного участка исходного антитела (например, гуманизированного или человеческого антитела). Как правило, полученный(е) вариант(ы), отобранный(е) для дальнейшей разработки, будет(ут) иметь улучшенные биологические свойства относительно исходного антитела, из которого они получены. Удобный способ генерации таких вариантов с заменой включает в себя созревание аффинности с применением фагового дисплея. Вкратце, несколько сайтов гиперварибельного участка (например, 6-7 сайтов) подвергаются мутации, чтобы получить все возможные аминокислотные замены в каждом сайте. Полученные таким образом варианты антител демонстрируются в одновалентном виде на частицах нитчатого фага как продукт слияния с геном III M13, упакованный в каждой частице. Показанные на фаге варианты в дальнейшем подвергаются скринингу на их биологическую активность (например, аффинность связывания), как описано в данном документе. С целью идентификации потенциальных сайтов гиперварибельных участков для модификации может быть выполнен аланин-сканирующий мутагенез, чтобы идентифицировать остатки гиперварибельного участка, в значительной мере способствующие связыванию с антигеном. В качестве альтернативы или дополнительно, может быть полезным проанализировать кристаллическую структуру комплекса антиген-антитело для идентификации точек контакта между связывающим доменом и, например, ДПБЗ (DLL3) человека. Такие контактирующие остатки и соседние остатки являются кандидатами на замену в соответствии со способами, разработанными в данном изобретении. После получения таких вариантов панель вариантов подвергается скринингу, как описано в данном документе, и антитела с превосходящими свойствами по данным одного или большего количества релевантных анализов могут быть выбраны для дальнейшей разработки.

Моноклональные антитела и конструкции антител по данному изобретению конкретно включают в себя "химерные" антитела (иммуноглобулины), в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, полученных из конкретного вида, или принадлежащих к конкретному классу или подклассу антител, в то время как остальная(ые) цепь(и) идентична(ы) или гомологична(ы) соответствующим последовательностям в антителах, полученных из другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагменты таких антител при условии, что они проявляют желаемую биологическую активность (патент США № 4816567; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)). Предложенные в данном изобретении химерные антитела включают в себя "примативизированные" антитела, содержащие антигенсвязывающие последовательности варибельного домена, полученные от приматов, не относящихся к человеку (например, старосветская мартышка, человекообразная обезьяна и т.д.), и человеческие последовательности константного участка. Описаны различные подходы к созданию химерных антител. См., например, Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 81:6851, 1985; Takeda et al., Nature, 314:452, 1985, Cabilly et al., патент США № 4816567; Boss et al., патент США № 4816397; Tanaguchi et al., EP 0171496; EP 0173494 и GB 2177096.

Кроме того, антитело, конструкция антитела, фрагмент антитела или вариант антитела могут быть модифицированы путем специфической делеции эпитопов Т-клеток человека (метод под названием "деиммунизация") способами, описанными, например, в WO 98/52976 или WO 00/34317. Вкратце, варибельные домены тяжелой и легкой цепей антитела могут быть проанализированы для пептидов, которые связываются с главным комплексом гистосовместимости (МНС) класса II; эти пептиды представляют собой потенциальные Т-клеточные эпитопы (как определено в WO 98/52976 и WO 00/34317).

Для обнаружения потенциальных Т-клеточных эпитопов может быть применен подход компьютерного моделирования под названием "белковая нить", и, кроме того, в базе данных пептидов, связывающихся с МНС класса II человека, можно провести поиск мотивов, присутствующих в последовательностях VH и VL, как описано в WO 98/52976 и WO 00/34317. Эти мотивы связываются с любым из 18 основных аллотипов DR МНС класса II и, таким образом, представляют собой потенциальные Т-клеточные эпитопы. Найденные потенциальные Т-клеточные эпитопы могут быть удалены путем замены небольшого количества аминокислотных остатков в варибельных доменах или, предпочтительно, путем замены одной аминокислоты. Как правило, производятся консервативные замены. Часто, но не исключительно, можно использовать аминокислоту, общую для положения в последовательностях антител зародышевой линии человека. Последовательности зародышевой линии человека раскрыты, например, в Tomlinson, et al. (1992), J. Mol. Biol. 227:776-798; Cook, G.P. et al. (1995), Immunol. Today, Vol. 16, (5) 237-242;

и Tomlinson et al. (1995), EMBO J. 14:14, p. 4628-4638. Каталог V BASE представляет собой полный каталог последовательностей переменных участков иммуноглобулина человека (составленный Tomlinson, L.A. et al., Центр белковой инженерии MRC, Кембридж, Великобритания). Эти последовательности могут быть применены как источник последовательности человека, например, для каркасных участков и CDR. Кроме того, можно использовать консенсусные каркасные участки человека, например, как описано в патенте США № 6300064.

"Гуманизированные" антитела, конструкции антител, их варианты или их фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ или другие антигенсвязывающие субпоследовательности антител) представляют собой антитела или иммуноглобулины, в основном с человеческими последовательностями, которые содержат (а) минимальную(ые) последовательность(и), полученную(ые) из иммуноглобулина, не относящегося к человеку. По большей части гуманизированные антитела представляют собой человеческие иммуноглобулины (антитело-реципиент), в которых остатки гиперварибельного участка (также CDR) реципиента заменены остатками гиперварибельного участка вида, не относящегося к человеку (например, грызуна) (антитело-донор), такого как мышь, крыса, хомяк или кролик, обладающими требуемой специфичностью, аффинностью и способностью. В некоторых случаях остатки Fv каркасного участка, KU (FR) человеческого иммуноглобулина заменены соответствующими остатками, не относящимися к человеку. Кроме того, "гуманизированные антитела", как используется в данном документе, могут дополнительно содержать остатки, которые не найдены ни в антитело-реципиенте, ни в антитело-доноре. Такие модификации осуществляют с целью дальнейшего совершенствования и оптимизации эффективности антитела. Кроме того, гуманизированное антитело может содержать по меньшей мере часть константного участка иммуноглобулина (Fc), как правило, из иммуноглобулина человека. Для получения дополнительной информации см. Jones et al., Nature, 321:522-525 (1986); Reichmann et al., Nature, 332:323-329 (1988) и Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2:593-596 (1992).

Гуманизированные антитела или их фрагменты могут быть получены путем замены последовательностей переменного домена Fv, которые не имеют непосредственного отношения к связыванию с антигеном, эквивалентными последовательностями из переменных доменов Fv человека. Типичные способы получения гуманизированных антител или их фрагментов предложены Morrison (1985), Science, 229:1202-1207; Oi et al. (1986), BioTechniques, 4:214 и в US 5585089; US 5693761; US 5693762; US 5859205; и US 6407213. Эти способы включают в себя выделение, манипулирование и экспрессию последовательностей нуклеиновых кислот, которые кодируют все или часть переменных доменов Fv иммуноглобулина по меньшей мере из одной тяжелой или легкой цепи. Такие нуклеиновые кислоты могут быть получены из гибридомы, вырабатывающей антитело против заданной мишени, как описано выше, а также из других источников. Рекомбинантную ДНК, кодирующую молекулу гуманизированного антитела, в дальнейшем можно клонировать в подходящий вектор экспрессии.

Кроме того, гуманизированные антитела могут быть получены с применением трансгенных животных, таких как мыши, которые экспрессируют гены тяжелой и легкой цепей человека, но не способны экспрессировать эндогенные гены тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина мыши. Winter описывает типичный способ пересадки CDR, который может быть применен для получения гуманизированных антител, описанных в данном изобретении (патент США № 5225539). Все CDR конкретного антитела человека могут быть заменены по меньшей мере частью CDR, не относящихся к человеку, или только некоторые из CDR могут быть заменены CDR, не относящимися к человеку. Необходимо только заменить количество CDR, необходимых для связывания гуманизированного антитела с заданным антигеном.

Гуманизированное антитело может быть оптимизировано путем введения консервативных замен, замен консенсусной последовательности, замен зародышевой линии и/или обратных мутаций. Такие модифицированные молекулы иммуноглобулина могут быть получены по любой из нескольких технологий, известных в данной области техники (например, Teng et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 80:7308-7312, 1983; Kozbor et al., Immunology Today, 4:7279, 1983; Olsson et al., Meth. Enzymol., 92:3-16, 1982 и EP 239400).

Термины "человеческое антитело", "конструкция человеческого антитела" и "связывающий домен человека" включают в себя антитела, конструкции антител и связывающие домены, которые содержат участки антитела, такие как переменные и константные участки или домены, которые по существу соответствуют последовательностям иммуноглобулина зародышевой линии человека, известным в данной области техники, включая в себя, например, те, которые описаны Kabat et al. (1991) (в приводившейся выше цитате). Антитела человека, конструкции антител или связывающие домены по изобретению могут включать в себя аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии человека (например, мутации, введенные случайным или сайт-специфическим мутагезом *in vitro* или соматической мутацией *in vivo*), например, в CDR и, в частности, в CDR3. Человеческие антитела, конструкции антител или связывающие домены могут содержать по меньшей мере одно, два, три, четыре, пять или более положений, замененных аминокислотным остатком, который не кодируется последовательностью иммуноглобулина зародышевой линии человека. Определение человеческих антител, конструкций антител и связывающих доменов, как используется в данном документе, дополнительно включает полностью человеческие антитела, которые включают в себя только последовательно-

сти человеческих антител, не являющиеся искусственно и/или генетически модифицированными, как те, которые могут быть получены с применением таких технологий или систем, как Xenomouse.

В некоторых вариантах осуществления изобретения конструкции антитела по изобретению представляют собой "выделенные" или "по существу чистые" конструкции антител. "Выделенный" или "по существу чистый", при использовании для описания конструкций антител, раскрытых в данном изобретении, означает конструкцию антитела, которая была идентифицирована, отделена и/или выделена из компонента среды, в которой она была продуцирована. Предпочтительно конструкция антитела является свободной или по существу свободной от всех других компонентов среды, в которой она была продуцирована. Загрязняющие компоненты среды, в которой она была продуцирована, такие как рекомбинантные трансфектированные клетки, представляют собой материалы, которые обычно могли бы препятствовать диагностическому или терапевтическому применению полипептида, и могут включать в себя ферменты, гормоны и другие растворенные вещества белковой или небелковой природы. Содержание конструкций антител может составлять, например, по меньшей мере примерно 5% или по меньшей мере примерно 50 мас.% от общего белка в конкретном образце. Необходимо понимать, что, в зависимости от обстоятельств, содержание выделенного белка может составлять от 5 до 99,9 мас.% от содержания общего белка. Полипептид может быть получен в значительно более высокой концентрации за счет применения индуцибельного промотора или промотора с высоким уровнем экспрессии таким образом, что он вырабатывается с повышенными уровнями концентрации. Определение включает в себя получение конструкции антитела в широком спектре организмов и/или клеток-хозяев, которые известны в данной области техники. В предпочтительных вариантах осуществления изобретения конструкция антитела будет очищена (1) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности с применением секвенатора с вращающимся стаканом, или (2) до гомогенности при помощи электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия, ДНС-ПААГ (SDS-PAGE) в невозстанавливающих или восстанавливающих условиях с применением Кумасси синего или предпочтительно серебрянки. Обычно, однако, выделенная конструкция антитела будет получена при помощи по меньшей мере одной стадии очистки.

Термин "связывающий домен" описывает в связи с настоящим изобретением домен, который (специфически) связывается/взаимодействует с/распознает конкретный целевой эпитоп или конкретный целевой сайт на молекулах-мишенях (антигенах), в данном изобретении: ДПБЗ (DLL3) и СДЗ (CD3) соответственно. Структура и функция первого связывающего домена (распознающего ДПБЗ (DLL3)) и предпочтительно также структура и/или функция второго связывающего домена (распознающего СДЗ (CD3)) основана(ы) на структуре и/или функции антитела, например, полноразмерной или цельной молекулы иммуноглобулина. Согласно изобретению первый связывающий домен характеризуется наличием трех CDR легкой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 участки VL) и/или трех CDR тяжелой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 участки VH). Кроме того, второй связывающий домен предпочтительно содержит минимальные структурные требования к антителу, которые позволяют связывание с мишенью. Более предпочтительно второй связывающий домен содержит по меньшей мере три CDR легкой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 участки VL) и/или три CDR тяжелой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 участки VH). Предполагается, что первый и/или второй связывающий домен получен или может быть получен при помощи скрининговых методов фагового дисплея или библиотеки, а не путем пересадки последовательностей CDR из ранее существовавшего (моноклонального) антитела в каркас.

В соответствии с настоящим изобретением связывающие домены находятся в форме одного или большего количества полипептидов. Такие полипептиды могут содержать белковые части и небелковые части (например, химические линкеры или химические поперечно-сшивающие агенты, такие как глутаровый альдегид). Белки (включая их фрагменты, предпочтительно биологически активные фрагменты и пептиды, обычно содержащие менее чем 30 аминокислот) содержат две или более аминокислоты, связанные друг с другом посредством ковалентной пептидной связи (с образованием цепи аминокислот). Как используется в данном изобретении, термин "полипептид" описывает группу молекул, которые обычно состоят более чем из 30 аминокислот. Полипептиды могут дополнительно образовывать мультимеры, такие как димеры, тримеры и высшие олигомеры, т.е. состоящие более чем из одной молекулы полипептида. Молекулы полипептидов, образующие такие димеры, тримеры и т.д., могут быть идентичными или неидентичными. Соответствующие структуры таких мультимеров более высокого порядка, следовательно, называются гомо- или гетеродимерами, гомо- или гетеротримерами и т.д. Примером гетеромультимера является молекула антитела, которая в своей естественной форме состоит из двух идентичных легких полипептидных цепей и двух идентичных тяжелых полипептидных цепей. Термины "пептид", "полипептид" и "белок" дополнительно относятся к естественно модифицированным пептидам/полипептидам/белкам, в которых модификация осуществляется, например, посредством посттрансляционных модификаций, таких как гликозилирование, ацетилирование, фосфорилирование и т.п.. Кроме того, "пептид", "полипептид" или "белок", упоминаемый в данном изобретении, может быть химически модифицирован, например пегилирован. Такие модификации хорошо известны в данной области техники и описаны ниже.

Предпочтительно связывающий домен, который связывается с ДПБЗ (DLL3), и/или связывающий

домен, который связывается с CD3 (CD3), является(ются) человеческими связывающими доменами.

Антитела и конструкции антител, содержащие по меньшей мере один человеческий связывающий домен, позволяют избежать некоторых проблем, связанных с антителами или конструкциями антител, которые содержат переменные и/или константные участки, не относящиеся к человеку, например грызуна (например, мышевидного, крысы, хомяка или кролика). Наличие таких белков, полученных из организма грызуна, может приводить к быстрому клиренсу антител или конструкций антител или может приводить к возникновению иммунного ответа против антитела или конструкции антитела у пациента. Чтобы избежать применения антител или конструкций антител, полученных из организма грызуна, человеческие или полностью человеческие антитела/конструкции антител могут быть получены путем введения функции человеческого антитела в организм грызуна таким образом, что грызун вырабатывает полностью человеческие антитела.

Возможность клонировать и реконструировать человеческие локусы размером миллионы оснований в искусственной дрожжевой хромосоме (YAC) и вводить их в зародышевую линию мыши обеспечивает мощный подход к прояснению функциональных компонентов очень больших или грубо картированных локусов, а также к созданию полезных моделей заболеваний человека. Кроме того, применение такой технологии для замены локусов мыши их человеческими эквивалентами может обеспечить уникальное понимание экспрессии и регуляции генных продуктов человека во время развития, их коммуникации с другими системами и их участия в индукции и развитии заболевания.

Важным практическим применением такой стратегии является "гуманизация" гуморальной иммунной системы мыши. Введение локусов иммуноглобулина человека (Ig) в организм мышей, у которых инактивированы эндогенные гены Ig, дает возможность изучить механизмы, лежащие в основе запрограммированной экспрессии и сборки антител, а также их роль в развитии В-клеток. Более того, такая стратегия могла бы стать идеальным источником для производства полностью человеческих моноклональных антител (mAb) - важной вехой в направлении выполнения обещания относительно лечения антителами заболеваний человека. Ожидается, что полностью человеческие антитела или конструкции антител минимизируют иммуногенные и аллергические реакции, присущие mAb мыши или дериватизированным mAb мыши и, таким образом, повысят эффективность и безопасность вводимых антител/конструкций антител. Можно ожидать, что применение полностью человеческих антител или конструкций антител обеспечит существенное преимущество при лечении хронических и рецидивирующих заболеваний человека, таких как воспаление, аутоиммунные реакции и рак, которые требуют повторного введения соединения.

Один из подходов к этой цели заключался в том, чтобы сконструировать породы мышей с недостаточной выработкой антител мыши, с большими фрагментами локусов Ig человека, в ожидании того, что такие мыши могли бы вырабатывать большой репертуар антител человека в отсутствие мышинных антител. Большие фрагменты Ig человека сохраняли бы большое разнообразие переменных генов, а также надлежащую регуляцию выработки и экспрессии антител. Путем применения аппарата мыши для диверсификации и селекции антител и отсутствия иммунологической толерантности к белкам человека, воспроизводимый репродуктор человеческих антител у этих мышей должен давать антитела с высокой аффинностью против любого антигена, представляющего интерес, включая человеческие антигены. С применением технологии гибридомы могут быть легко получены и отобраны антигенспецифические человеческие mAb с желаемой специфичностью. Эта общая стратегия была продемонстрирована в связи с получением первых пород мышей XenoMouse (см. Green et al. *Nature Genetics*, 7:13-21 (1994)). Штаммы XenoMouse были сконструированы при помощи искусственных дрожжевых хромосом (YAC), содержащих фрагменты конфигурации зародышевой линии размером 245 тыс. о. и 190 тыс. о. в локусе тяжелой цепи человека и локусе легкой цепи каппа соответственно, которые содержали ключевые последовательности переменного и константного участка. YAC, содержащая человеческий Ig, оказалась совместимой с системой мыши как для перегруппировки, так и для экспрессии антител и была способна заменить инактивированные гены Ig мыши. Это было продемонстрировано их способностью индуцировать развитие В-клеток, вырабатывать подобный взрослым человеческий репертуар полностью человеческих антител и генерировать антигенспецифические человеческие mAb. Эти результаты также наводили на мысль о том, что введение больших порций локусов Ig человека, содержащих большее количество V-генов, дополнительные регуляторные элементы и константные участки Ig человека, может воспроизвести по существу полный репертуар, характерный для гуморального ответа человека на инфекцию и иммунизацию. Работа Green et al. недавно была распространена на введение более чем около 80% репертуара человеческих антител посредством введения фрагментов YAC конфигурации зародышевой линии размером в миллионы оснований локусов тяжелой цепи человека и локусов легкой цепи каппа, соответственно. См. Mendez et al. *Nature Genetics*, 15:146-156 (1997) и патентную заявку США № 08/759620.

Получение мышей XenoMouse дополнительно обсуждается и охарактеризовано в патентных заявках США № 07/466008, 07/610515, 07/919297, 07/922649, 08/031801, 08/112848, 08/234145, 08/376279, 08/430938, 08/464584, 08/464582, 08/463191, 08/462837, 08/486853, 08/486857, 08/486859, 08/462513, 08/724752 и 08/759620; и патентах США № 6162963; 6150584; 6114598; 6075181 и 5939598 и патентах Японии № 3068180 B2, 3068506 B2 и 3068507 B2. См. также Mendez et al. *Nature Genetics*, 15:146-156

(1997) и Green and Jakobovits J. Exp. Med. 188:483-495 (1998), EP 0463151 B1, WO 94/02602, WO 96/34096, WO 98/24893, WO 00/76310 и WO 03/47336.

В альтернативном подходе другие, включая GenPharm International, Inc., применили подход "мини-локуса". В подходе мини-локуса экзогенный локус Ig имитируется путем включения фрагментов (отдельных генов) локуса Ig. Таким образом, один или большее количество VH-генов, один или большее количество DH-генов, один или большее количество JH-генов, константный участок мю и второй константный участок (предпочтительно константный участок гамма) формируются в конструкции для введения животному. Этот подход описан в патенте США № 5545807, Surani et al., и патентах США № 5545806; 5625825; 5625126; 5633425; 5661016; 5770429; 5789650; 5814318; 5877397; 5874299 и 6255458, каждый выдан Lonberg и Kay, патентах США № 5591669 и 6023010, выданных Krimpenfort и Berns, патентах США № 5612205; 5721367 и 5789215, выданных Berns et al., и патенте США № 5643763, выданном Choi и Dunn, а также в патентной заявке США GenPharm International. № 07/574748, 07/575962, 07/810279, 07/853408, 07/904068, 07/990860, 08/053131, 08/096762, 08/155301, 08/161739, 08/165699, 08/209741. См. также EP 0546073 B1, WO 92/03918, WO 92/22645, WO 92/22647, WO 92/22670, WO 93/12227, WO 94/00569, WO 94/25585, WO 96/14436, WO 97/13852 и WO 98/24884 и патент США № 5981175. Дополнительно см. Taylor et al. (1992), Chen et al. (1993), Tuailon et al. (1993), Choi et al. (1993), Lonberg et al. (1994), Taylor et al. (1994) и Tuailon et al. (1995), Fishwild et al. (1996).

Kirin также продемонстрировал выработку человеческих антител у мышей, в организм которых посредством микроклеточного слияния были введены большие фрагменты хромосом или целые хромосомы. См. европейскую патентную заявку № 773288 и 843961. Xenorex Biosciences разрабатывает технологию для потенциальной генерации человеческих антител. В этой технологии организм мышей SCID преобразуют при помощи лимфатических клеток человека, например В- и/или Т-клеток. Затем мышей иммунизируют антигеном, причем они способны генерировать иммунный ответ против антигена. См. патенты США № 5476996; 5698767 и 5958765.

Реакция в форме человеческого антимышиного антитела (НАМА), привела к тому, что в промышленности стали получать химерные или иным способом гуманизированные антитела. Тем не менее ожидается, что некоторые реакции человека против химерного антитела (НАСА) будут наблюдаться, особенно при хроническом или многократном применении антитела. Таким образом, было бы желательно предложить конструкции антител, содержащие человеческий связывающий домен против ДПБЗ (DLL3) и/или человеческий связывающий домен против СДЗ (CD3), чтобы устранить озабоченность и/или влияние реакции НАМА или НАСА.

Термины "(специфически) связывается с", "(специфически) распознает", "(специфически) направлен на" и "(специфически) реагирует с" в соответствии с настоящим изобретением означают, что связывающий домен взаимодействует или специфически взаимодействует с данным эпитопом или данным целевым сайтом на молекуле-мишени (антигенами), в данном изобретении ДПБЗ (DLL3) и СДЗ (CD3) соответственно.

Термин "эпитоп" относится к сайту на антигене, с которым специфически связывается связывающий домен, антитело или иммуноглобулин или производное, фрагмент или вариант антитела или иммуноглобулина. "Эпитоп" является антигенным, и поэтому термин эпитоп в данном изобретении иногда дополнительно относится к "антигенной структуре" или "антигенной детерминанте". Таким образом, связывающий домен является "сайтом взаимодействия с антигеном". Указанное связывание/взаимодействие также понимается как определяющее "специфическое распознавание".

"Эпитопы" могут образовываться как смежными аминокислотами, так и несмежными аминокислотами, которые сближены в результате третичного свертывания белка. "Линейный эпитоп" представляет собой эпитоп, в котором первичная последовательность аминокислот составляет распознаваемый эпитоп. Линейный эпитоп обычно содержит по меньшей мере 3 или по меньшей мере 4 и более обычно по меньшей мере 5, или по меньшей мере 6, или по меньшей мере 7, например от 8 до 10, аминокислот в уникальной последовательности.

"Конформационный эпитоп", в отличие от линейного эпитопа, представляет собой эпитоп, в котором первичная последовательность аминокислот, составляющая эпитоп, не является единственным определяющим компонентом распознаваемого эпитопа (например, эпитопа, в котором первичная последовательность аминокислот не обязательно распознается связывающим доменом). Обычно конформационный эпитоп содержит большее количество аминокислот, чем линейный эпитоп. Что касается распознавания конформационных эпитопов, связывающий домен распознает трехмерную структуру антигена, предпочтительно пептида или белка или его фрагмента (в контексте данного изобретения антигенная структура для первого связывающего домена находится в пределах белка ДПБЗ (DLL3)). Например, если молекула белка сворачивается с образованием трехмерной структуры, некоторые аминокислоты и/или полипептидный скелет, образующие конформационный эпитоп, сближаются, позволяя антителу распознавать эпитоп. Методы определения конформации эпитопов включают в себя, но не ограничиваясь этим, рентгеновскую кристаллографию, двумерную спектроскопию ядерного магнитного резонанса, 2М-ЯМР (2D-NMR) и сайт-направленную спектроскопию со спиновой меткой и спектроскопию электронного парамагнитного резонанса (EPR).

Способ картирования эпитопов описан следующим образом: если участок (непрерывный отрезок аминокислот) в белке ДПБЗ (DLL3) человека заменяется соответствующим участком антигена ДПБЗ (DLL3), не относящимся к человеку и не относящимся к примату (например, ДПБЗ (DLL3) мыши, хотя другие, такие как цыпленок, крыса, хомяк, кролик и т.д., также могут быть подходящими), ожидается уменьшение связывания связывающего домена, если только связывающий домен не является перекрестно-реагирующим на применяемый ДПБЗ (DLL3), не относящийся к человеку и не относящийся к примату. Указанное снижение предпочтительно составляет по меньшей мере 10, 20, 30, 40 или 50%; более предпочтительно по меньшей мере 60, 70 или 80% и наиболее предпочтительно 90, 95 или даже 100% по сравнению со связыванием с соответствующим участком белка ДПБЗ (DLL3) человека, притом, что связывание с соответствующим участком белка ДПБЗ (DLL3) человека принимается за 100%. Предполагается, что вышеуказанные химеры ДПБЗ (DLL3) человека/ДПБЗ (DLL3), не относящегося к человеку, экспрессируются в клетках яичника китайского хомяка, СНО. Кроме того, предполагается, что химеры ДПБЗ (DLL3) человека/ДПБЗ (DLL3), не относящегося к человеку, слиты с трансмембранным доменом и/или цитоплазматическим доменом другого связанного с мембраной белка, такого как адгезивная молекула эпителиальных клеток (ЕрСАМ).

В альтернативном или дополнительном способе картирования эпитопов могут быть сгенерированы несколько укороченных версий внеклеточного домена ДПБЗ (DLL3) человека, чтобы определить конкретный участок, который распознается связывающим доменом. В этих укороченных версиях различные внеклеточные домены/субдомены или участки ДПБЗ (DLL3) поэтапно удаляются, начиная с N-конца. Укороченные версии ДПБЗ (DLL3), которые были сгенерированы и применены в контексте данного изобретения, проиллюстрированы на фиг. 1. Предполагается, что укороченные версии ДПБЗ (DLL3) экспрессируются в клетках СНО. Кроме того, предполагается, что укороченные версии ДПБЗ (DLL3) слиты с трансмембранным доменом и/или цитоплазматическим доменом другого связанного с мембраной белка, такого как ЕрСАМ. Дополнительно предполагается, что укороченные версии ДПБЗ (DLL3) содержат на N-конце домен сигнального пептида, например сигнальный пептид, полученный из сигнального пептида тяжелой цепи IgG мыши. Кроме того, предполагается, что укороченные версии ДПБЗ (DLL3) содержат на N-конце домен v5 (после сигнального пептида), который позволяет проверить правильность их экспрессии на поверхности клетки. Ожидается, что произойдет снижение или утрата связывания с этими укороченными версиями ДПБЗ (DLL3), которые больше не содержат участка ДПБЗ (DLL3), распознаваемого связывающим доменом. Уменьшение связывания предпочтительно составляет по меньшей мере 10, 20, 30, 40, 50%; более предпочтительно по меньшей мере 60, 70, 80% и наиболее предпочтительно 90, 95 или даже 100%, при этом связывание с полноразмерным белком ДПБЗ (DLL3) человека (или его внеклеточным участком или доменом) принимается за 100%. Способ проверки описанной утраты связывания описан в Примере 2.

Другим методом определения вклада конкретного остатка целевого антигена в распознавание конструкции антителя или связывающим доменом является аланиновое сканирование (см., например, Morrison K.L. & Weiss G.A. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2001 Jun; 5(3):302-7), при котором каждый остаток, подлежащий анализу, заменяется аланином, например, путем сайт-направленного мутагенеза. Аланин применяется из-за его необъемной, химически инертной, метильной функциональной группы, тем не менее имитирующей ссылки вторичной структуры, которыми обладают многие другие аминокислоты. Иногда объемные аминокислоты, такие как валин или лейцин, можно применять в тех случаях, когда желательно сохранить размер мутантных остатков. Аланиновое сканирование представляет собой развитую технологию, которая применяется в течение длительного периода времени.

Взаимодействие между связывающим доменом и эпитопом или участком, содержащим эпитоп, подразумевает, что связывающий домен проявляет заметную аффинность к эпитопу/участку, содержащему эпитоп, на конкретном белке или антигене (в данном изобретении ДПБЗ (DLL3) и СДЗ (CD3) соответственно) и, как правило, не проявляет значительной реакционной способности в отношении белков или антигенов, отличных от ДПБЗ (DLL3) или СДЗ (CD3). "Заметная аффинность" включает в себя связывание с аффинностью около 10^{-6} М (константа диссоциации, KD), или сильнее. Предпочтительно связывание считается специфическим, если аффинность связывания составляет от 10^{-12} до 10^{-8} М, от 10^{-12} до 10^{-9} М, от 10^{-12} до 10^{-10} М, от 10^{-11} до 10^{-8} М, предпочтительно от 10^{-11} до 10^{-9} М. Специфически ли связывающий домен реагирует с или связывается с мишенью, можно с легкостью проверить, среди прочего, путем сравнения реакции указанного связывающего домена с целевым белком или антигеном с реакцией указанного связывающего домена с белками или антигенами, отличными от ДПБЗ (DLL3) или СДЗ (CD3). Предпочтительно связывающий домен по данному изобретению по существу или в существенной мере не связывается с белками или антигенами, отличными от ДПБЗ (DLL3) или СДЗ (CD3) (т.е. первый связывающий домен не способен связываться с белками, отличными от ДПБЗ (DLL3), а второй связывающий домен не способен связываться к белкам, отличным от СДЗ (CD3)).

Термин "по существу/в существенной мере не связывается" или "не способен к связыванию" означает, что связывающий домен по данному изобретению не связывается с белком или антигеном, отличным от ДПБЗ (DLL3) или СДЗ (CD3), т.е. не проявляет реакционной способности более чем 30%, предпочтительно не более чем 20%, более предпочтительно не более чем 10%, особенно предпочтительно не

более чем 9, 8, 7, 6 или 5% в отношении белков или антигенов, отличных от ДПБЗ (DLL3) или СДЗ (CD3), причем связывание с ДПБЗ (DLL3) или СДЗ (CD3) соответственно принимается за 100%.

Кроме того, предполагается, что конструкции антител по данному изобретению связываются с изоформой ДПБЗ (DLL3) человека, содержащей одну или обе из следующих точечных мутаций ДПБЗ (DLL3): F172C и L218P, см. Пример 5.

Считается, что специфическое связывание осуществляется конкретными мотивами в аминокислотной последовательности связывающего домена и антигена. Таким образом, связывание достигается в результате их первичной, вторичной и/или третичной структуры, а также в результате вторичных модификаций указанных структур. Специфическое взаимодействие сайта взаимодействия с антигеном с его специфическим антигеном может привести к простому связыванию указанного сайта с антигеном. Кроме того, специфическое взаимодействие сайта взаимодействия с антигеном с его специфическим антигеном может, в качестве альтернативы или дополнительно, приводить к иницированию сигнала, например, вследствие индукции изменения конформации антигена, олигомеризации антигена и т.д.

Конструкции антител в соответствии с изобретением связываются с эпитопом ДПБЗ (DLL3), который находится в пределах участка, представленного в SEQ ID NO: 260, что соответствует отрезку аминокислот, охватывающему участки EGF-3 и EGF-4. Были также созданы другие группы связывающих агентов против ДПБЗ (DLL3), и их специфичность связывания с ДПБЗ (DLL3) была идентифицирована во время картирования эпитопов (см. Пример 2).

Наибольшая группа полученных связывающих агентов распознавала эпитоп в домене дисульфидной петли, ДСП (DSL). Однако ни одна из этих конструкций антител не удовлетворяла критериям достаточной цитотоксической активности в начальном 18-часовом анализе цитотоксичности на основе ⁵¹Сг со стимулированными CD8⁺ Т-клетками человека в качестве эффекторных клеток и трансфектированными hu ДПБЗ (DLL3) клетками CHO в качестве клеток-мишеней.

В еще одном начальном 48-часовом анализе цитотоксичности на основе сортировки клеток с активированной флуоресценцией FACS (с применением нестимулированных мононуклеарных клеток периферической крови PBMC человека в качестве эффекторных клеток и трансфектированных hu ДПБЗ (DLL3) клеток CHO в качестве клеток-мишеней), для тех связывающих агентов, которые распознавали эпитоп ДПБЗ (DLL3) на N-конце белка, значения эффективной концентрации, обеспечивающей 50% от максимально возможного эффекта (EC₅₀) составляли от 1455 до 1580 пМ. В данном контексте эти значения не являются достаточными для биспецифических антител, которые предлагаются для терапевтического применения с целью нацеливания иммунной системы пациента, более конкретно цитотоксической активности Т-клеток против раковых клеток.

Наконец, другая группа связывающих агентов была создана и охарактеризована на предмет цитотоксической активности в различных анализах. Эпитопное картирование этих связывающих агентов показало специфичность в отношении эпитопа ДПБЗ (DLL3), входящего в участок EGF-5, а также, до некоторой степени, в участок EGF-6 (подробности см. в Примере 2). Общий обзор данных, полученных в различных анализах цитотоксичности (см. Примеры 8.3, 8.5-8.7) для этих связывающих агентов, обозначенных ДПБЗ (DLL3)-18, ДПБЗ (DLL3)-19, ДПБЗ (DLL3)-20 и ДПБЗ (DLL3)-21, показал следующее: хотя не все связывающие агенты не соответствуют критериям во всех анализах с точки зрения благоприятных значений EC₅₀, вся группа явно уступает по эффективности конструкциям антител в соответствии с изобретением. Этому наблюдению соответствует более темное окрашивание результатов, приведенных в табл. 6-9.

Таким образом, можно четко заявить, что конструкции антител в соответствии с изобретением (которые связываются с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящим в пределах участка, представленного в SEQ ID NO: 260), на сегодняшний день демонстрируют лучшие показатели активности по сравнению с различными другими группами связывающих агентов против ДПБЗ (DLL3) с другой специфичностью в отношении эпитопов. Другими словами, конструкции антител в соответствии с настоящим изобретением обладают благоприятным соотношением эпитопа-активности, следовательно поддерживая высокую цитотоксическую активность, опосредованную конструкцией биспецифического антитела.

В другом аспекте данное изобретение относится к конструкции биспецифического антитела, содержащей первый связывающий домен, который связывается с ДПБЗ (DLL3) человека на поверхности клетки-мишени, и второй связывающий домен, который связывается с СДЗ (CD3) человека на поверхности Т-клетки, причем первый связывающий домен связывается с эпитопом ДПБЗ (DLL3), который входит в участок, представленный в SEQ ID NO: 258.

Предпочтительно первый связывающий домен конструкции биспецифического антитела по изобретению содержит участок VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, и участок VL, который содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из группы, состоящей из следующего:

а) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 31, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 32, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 33, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 34, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 35, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 36;

б) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 41, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 42, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 43, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 44, CDR-L2, пред-

ставленного в SEQ ID NO: 45, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 46;

с) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 51, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 52, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 53, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 54, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 55, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 56;

д) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 61, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 62, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 63, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 64, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 65, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 66;

е) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 71, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 72, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 73, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 74, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 75, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 76;

ф) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 81, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 82, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 83, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 84, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 85, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 86;

г) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 91, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 92, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 93, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 94, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 95, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 96;

h) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 101, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 102, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 103, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 104, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 105, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 106; и

i) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 111, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 112, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 113, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 114, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 115, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 116.

Термин "вариабельный" относится к частям антитела или доменам иммуноглобулина, которые проявляют изменчивость последовательности и которые принимают участие в определении специфичности и аффинности связывания конкретного антитела (т.е. "вариабельный(ые) домен(ы)"). Спаривание вариабельной тяжелой цепи (VH) с вариабельной легкой цепью (VL) образует один антигенсвязывающий сайт.

Изменчивость распределяется неравномерно по вариабельным доменам антител; она сосредоточена в субдоменах каждого из вариабельных участков тяжелой и легкой цепей. Эти субдомены называются "гипервариабельными участками" или "участками, определяющими комплементарность" (CDR). Более консервативные (т.е. не гипервариабельные) части вариабельных доменов называются "каркасными" участками, KV (FRM или FR), и обеспечивают каркас для шести CDR в трехмерном пространстве для образования антигенсвязывающей поверхности. Вариабельные домены встречающихся в природе тяжелых и легких цепей содержат четыре участка FRM (FR1, FR2, FR3 и FR4), в основном принимающих конфигурацию β -листа, соединенную тремя гипервариабельными участками, которые образуют петли, соединяющие, а в некоторых случаях образующие часть структуры β -листа. Гипервариабельные участки в каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости от FRM и вместе с гипервариабельными участками другой цепи способствуют образованию антигенсвязывающего сайта (см. Kabat et al., в приводившейся выше цитате).

Термин "CDR" в единственном и множественном числе относится к участку, определяющему комплементарность, который в количестве трех определяет связывающий характер вариабельного участка легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) и в количестве трех определяет связывающий характер вариабельного участка тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3). CDR содержат большую часть остатков, ответственных за специфическое взаимодействие антитела с антигеном, и, следовательно, способствуют функциональной активности молекулы антитела: они являются основными детерминантами антигенной специфичности.

Конкретные границы определения CDR и их длина определяются в разных системах классификации и нумерации. Поэтому CDR могут ссылаться на Kabat, Chothia, контактное или любые другие определения границ, включая описанную в данном документе систему нумерации. Несмотря на варьирующие границы, каждой из этих систем присуща некоторая степень перекрытия в том, что составляет так называемые "гипервариабельные участки" в вариабельных последовательностях. Таким образом, определения CDR в соответствии с этими системами могут различаться по длине и граничным областям относительно смежного каркасного участка. См., например, Kabat (подход, основанный на изменчивости перекрестно-видовой последовательности), Chothia (подход, основанный на кристаллографических исследованиях комплексов антигена-антитела) и/или MacCallum (Kabat et al., в приводившейся выше цитате, Chothia et al., *J. Mol. Biol.*, 1987, 196:901-917, и MacCallum et al., *J. Mol. Biol.*, 1996, 262:732). Еще одним стандартом для характеристики сайта связывания с антигеном является определение AbM, используемое в программном обеспечении для моделирования антител AbM Oxford Molecular. См., например, Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. В: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg). В той мере, в которой две методологии идентификации остатков определяют области перекрывающихся, но не идентичных участков, их можно объединить для определения гибридного CDR. Однако нумерация в соответствии с так называемой сис-

темой Kabat является предпочтительной.

Как правило, CDR образуют петлевую структуру, которая может быть классифицирована как каноническая структура. Термин "каноническая структура" относится к конформации основной цепи, которая принимается антигенсвязывающими петлями (CDR). В сравнительных структурных исследованиях было установлено, что пять из шести антигенсвязывающих петель имеют только ограниченный репертуар доступных конформаций. Каждая каноническая структура может быть охарактеризована углами поворота полипептидного скелета. Таким образом, соответствующие петли в антителах могут иметь очень похожую трехмерную структуру, несмотря на высокую вариабельность аминокислотных последовательностей в большинстве частей петель (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.*, 1987, 196:901; Chothia et al., *Nature*, 1989, 342:877; Martin and Thornton, *J. Mol. Biol.*, 1996, 263:800). Кроме того, существует взаимосвязь между принимаемой петлей структурой и окружающими ее аминокислотными последовательностями. Конформация конкретного канонического класса определяется длиной петли и аминокислотными остатками, находящимися в ключевых положениях внутри петли, а также в пределах консервативного каркаса (т.е. за пределами петли). Таким образом, отнесение к конкретному каноническому классу может быть основано на наличии этих ключевых аминокислотных остатков.

Термин "каноническая структура" может также включать в себя соображения относительно линейной последовательности антитела, например, как каталогизировано Kabat (Kabat et al., в приводившейся выше цитате). Схема (система) нумерации Kabat является широко признанным стандартом нумерации аминокислотных остатков вариабельного домена антитела систематическим образом и является предпочтительной схемой, применяемой в данном изобретении, как упоминалось в другом месте данного документа. Дополнительные структурные соображения также могут быть применены для определения канонической структуры антитела. Например, эти различия, не полностью отраженные нумерацией Kabat, могут быть описаны системой нумерации Chothia et al. и/или выявлены другими методами, например кристаллографией и двух- или трехмерным вычислительным моделированием.

Соответственно, данная последовательность антител может быть отнесена к каноническому классу, который позволяет, среди прочего, идентифицировать подходящие последовательности шасси (например, на основе желания включить в библиотеку множество канонических структур). Нумерация Kabat аминокислотных последовательностей антитела, структурные соображения, описанные Chothia et al., в приводившейся выше цитате и их влияние на толкование канонических аспектов структуры антитела описаны в литературе. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов иммуноглобулинов хорошо известны в данной области техники. Обзор структуры антител см. в *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow et al., 1988.

CDR3 легкой цепи и особенно CDR3 тяжелой цепи могут составлять наиболее важные детерминанты связывания с антигеном в вариабельных участках легкой и тяжелой цепи. В некоторых конструкциях антител CDR3 тяжелой цепи, по-видимому, составляет основную область контакта между антигеном и антителом. Схемы отбора *in vitro*, в которых варьируют только CDR3, могут быть применены для варьирования связывающих свойств антитела или определения того, какие остатки вносят вклад в связывание с антигеном. Следовательно, CDR3, как правило, является самым большим источником молекулярного разнообразия в связывающем сайте антитела. H3, например, может быть очень коротким, всего два аминокислотных остатка, или содержать более чем 26 аминокислот.

В классическом полноразмерном антителе или иммуноглобулине каждая легкая (L) цепь связана с тяжелой (H) цепью одной ковалентной дисульфидной связью, тогда как две цепи H связаны друг с другом одной или несколькими дисульфидными связями в зависимости от изотипа цепи H. Домен CH₁, наиболее близкий к VH, обычно обозначается как CH₁. Константные ("C") домены непосредственно не принимают участие в связывании с антигеном, но выполняют различные эффекторные функции, такие как антителозависимая, клеточно-опосредованная цитотоксичность и активация комплемента. Участок Fc антитела входит в константные домены тяжелой цепи и, например, способен взаимодействовать с рецепторами Fc, расположенными на клеточной поверхности.

Последовательность генов антител после сборки и соматической мутации значительно варьирует, и, согласно оценкам, такие варьирующие гены кодируют 10^{10} различных молекул антител (*Immunoglobulin Genes*, 2nd ed., eds. Jonio et al., Academic Press, San Diego, CA, 1995). Соответственно, иммунная система обеспечивает репертуар иммуноглобулинов. Термин "репертуар" относится по меньшей мере к одной нуклеотидной последовательности, полученной полностью или частично по меньшей мере из одной последовательности, кодирующей по меньшей мере один иммуноглобулин. Последовательность(и) может(гут) быть получена(ы) путем перегруппировки *in vivo* сегментов тяжелых цепей V, D и J и сегментов легких цепей V и J. В качестве альтернативы последовательность(и) может(гут) быть получена(ы) из клетки, в ответ на которую происходит перегруппировка, например стимуляция *in vitro*. В качестве альтернативы часть или вся последовательность(и) может(гут) быть получена(ы) путем сплайсинга ДНК, синтеза нуклеотидов, мутагенеза и других способов, см., например, патент США № 5565332. Репертуар может включать в себя только одну последовательность или может включать в себя множество последовательностей, в том числе в генетически разнообразной коллекции.

Предпочтительная конструкция антитела согласно изобретению также может быть определена как

конструкция биспецифического антитела, содержащая первый (предпочтительно человеческий) связывающий домен, который связывается с ДПБЗ (DLL3) человека на поверхности клетки-мишени, и второй связывающий домен, который связывается с СДЗ (CD3) человека на поверхности Т-клетки, причем первый связывающий домен связывается с тем же эпитопом ДПБЗ (DLL3), что и антитело, выбранное из группы, состоящей из ДПБЗ (DLL3)-4, ДПБЗ (DLL3)-5, ДПБЗ (DLL3)-6, ДПБЗ (DLL3)-7, ДПБЗ (DLL3)-8, ДПБЗ (DLL3)-9 и ДПБЗ (DLL3)-10, т.е. антитело, содержащее участок VH, который содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, и участок VL, который содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из группы, состоящей из:

а) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 31, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 32, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 33, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 34, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 35, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 36;

б) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 41, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 42, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 43, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 44, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 45, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 46;

в) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 51, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 52, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 53, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 54, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 55, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 56;

г) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 61, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 62, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 63, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 64, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 65, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 66;

д) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 71, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 72, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 73, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 74, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 75, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 76;

е) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 81, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 82, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 83, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 84, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 85, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 86; и

ж) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 91, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 92, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 93, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 94, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 95, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 96.

Связывается ли конструкция антитела с тем же эпитопом ДПБЗ (DLL3), что и другая заданная конструкция антитела, можно определить, например, путем картирования эпитопа с химерными или укороченными молекулами-мишенями, например, как описано в данном документе выше и в Примере 2.

Предпочтительная конструкция антитела согласно изобретению также может быть определена как конструкция биспецифического антитела, содержащая первый (предпочтительно человеческий) связывающий домен, который связывается с ДПБЗ (DLL3) человека на поверхности клетки-мишени, и второй связывающий домен, который связывается с СДЗ (CD3) человека на поверхности Т-клетки, причем первый связывающий домен конкурирует за связывание с антителом, выбранным из группы, состоящей из ДПБЗ (DLL3)-4, ДПБЗ (DLL3)-5, ДПБЗ (DLL3)-6, ДПБЗ (DLL3)-7, ДПБЗ (DLL3)-8, ДПБЗ (DLL3)-9 и ДПБЗ (DLL3)-10, т.е. антителом, содержащим участок VH, который содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, и участок VL, который содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из группы, состоящей из описанных выше.

Конкурирует ли конструкция антитела за связывание с другой заданной конструкцией антитела, можно определить в конкурентном анализе, таком как конкурентный ТИФА (ELISA) или конкурентный анализ на основе клеток. Кроме того, можно применять связанные с авидином микрочастицы (шарики). Подобно покрытому авидином планшету ТИФА (ELISA), при взаимодействии с биотинилированным белком каждый из этих шариков может быть применен в качестве субстрата, на котором может быть проведен анализ. Антиген наносится на шарик, который затем предварительно покрывают первым антителом. Добавляют второе антитело и определяют любое дополнительное связывание. Считывание проводят методом проточной цитометрии.

В одном варианте осуществления изобретения первый связывающий домен конструкции антитела по изобретению содержит участок VH, выбранный из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 435 и SEQ ID NO: 529.

В дополнительном варианте осуществления изобретения первый связывающий домен конструкции антитела по изобретению содержит участок VL, выбранный из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 436 и SEQ ID NO: 530.

В другом варианте осуществления изобретения первый связывающий домен конструкции антитела по изобретению содержит участок VH и участок VL, выбранные из группы, состоящей из пар участков VH и участков VL, представленных в SEQ ID NO: 37 плюс 38; SEQ ID NO: 47 плюс 48; SEQ ID NO: 57 плюс 58; SEQ ID NO: 67 плюс 68; SEQ ID NO: 77 плюс 78; SEQ ID NO: 87 плюс 88; SEQ ID NO: 97 плюс 98; SEQ ID NO: 107 плюс 108; SEQ ID NO: 117 плюс 118; SEQ ID NO: 435 плюс 436 и SEQ ID NO: 529

плюс 530.

В еще одном дополнительном варианте осуществления изобретения первый связывающий домен конструкции антитела по изобретению содержит полипептид, выбранный из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 437 и SEQ ID NO: 531.

Вышеуказанные первые связывающие домены (обозначенные по их CDR, участку VH и участку VL и их комбинациям) характеризуются как связывающие домены, которые связываются с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка, представленного в SEQ ID NO: 258.

Как используется в данном изобретении, термин "биспецифический" относится к конструкции антитела, которая является "по меньшей мере биспецифической", т.е. она содержит по меньшей мере первый связывающий домен и второй связывающий домен, причем первый связывающий домен связывается с одним антигеном или мишенью (в данном изобретении: ДПБЗ (DLL3)), а второй связывающий домен связывается с другим антигеном или мишенью (в данном изобретении: CD3 (CD3)). Соответственно, конструкции антител в соответствии с изобретением обладают специфичностью по меньшей мере в отношении двух разных антигенов или мишеней. Кроме того, термин "конструкция биспецифического антитела" по изобретению включает конструкции полиспецифических антител, такие как конструкции триспецифических антител, притом что последние содержат три связывающих домена, или конструкции, обладающие более чем тремя (например, четырьмя, пятью, ...) видами специфичности.

Учитывая, что конструкции антител в соответствии с изобретением являются (по меньшей мере) биспецифическими, они не встречаются в природе, и они заметно отличаются от естественных продуктов. Таким образом, "биспецифическая" конструкция антитела или иммуноглобулина является искусственным гибридным антителом или иммуноглобулином, содержащим по меньшей мере два различных сайта связывания с разной специфичностью. Биспецифические конструкции антител могут быть получены различными способами, включая слияние гибридом или связывание Fab'-фрагментов. См., например, Songsivilai & Lachmann, *Clin. Exp. Immunol.* 79:315-321 (1990).

По меньшей мере два связывающих домена и варибельных домена конструкции антитела по данному изобретению могут содержать или не содержать пептидных линкеров (спейсерные пептиды). Термин "пептидный линкер" в соответствии с настоящим изобретением включает в себя аминокислотную последовательность, посредством которой аминокислотные последовательности одного (варибельного и/или связывающего) домена и другого (варибельного и/или связывающего) домена в конструкции антитела по изобретению связаны друг с другом. Существенным техническим признаком такого пептидного линкера является то, что он не обладает полимеризационной активностью. В числе подходящих пептидных линкеров находятся те, которые описаны в патентах США № 4751180 и 4935233 или WO 88/09344. Кроме того, пептидные линкеры могут быть применены для присоединения других доменов или модулей или участков (например, доменов, удлиняющих период полувыведения) к конструкции антитела по изобретению.

В том случае, если используется линкер, длина и последовательность этого линкера предпочтительно являются достаточными, чтобы гарантировать, что каждый из первого и второго доменов сможет независимо друг от друга сохранять свою отличающуюся специфичность связывания. Для пептидных линкеров, которые соединяют по меньшей мере два связывающих домена (или два варибельных домена) в конструкции антитела по изобретению, предпочтительными являются указанные пептидные линкеры, которые содержат только несколько аминокислотных остатков, например 12 аминокислотных остатков или менее. Таким образом, предпочтительными являются пептидные линкеры из 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 или 5 аминокислотных остатков. Предполагаемый пептидный линкер менее чем с 5 аминокислотами содержит 4, 3, 2 или одну аминокислоту, причем богатые Gly линкеры являются предпочтительными. Особенно предпочтительной "единственной" аминокислотой в контексте указанного "пептидного линкера" является Gly. Соответственно, указанный пептидный линкер может состоять из одной аминокислоты Gly. Другой предпочтительный вариант пептидного линкера характеризуется аминокислотной последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, т.е. Gly₄Ser (SEQ ID NO: 286), или их полимерами, т.е. (Gly₄Ser)_x, где x представляет собой целое число 1 или больше (например, 2 или 3). Предпочтительные линкеры представлены в SEQ ID NO: 285-293. Характеристики указанного пептидного линкера, которые включают в себя отсутствие содействия образованию вторичных структур, известны в данной области техники и описаны, например, в Dall'Acqua et al. (*Biochem.* (1998), 37, 9266-9273), Cheadle et al. (*Mol Immunol* (1992), 29, 21-30) и Raag and Whitlow (*FASEB* (1995), 9(1), 73-80). Предпочтительными являются пептидные линкеры, которые, кроме того, не способствуют образованию каких-либо вторичных структур. Связывание указанных доменов друг с другом может быть обеспечено, например, при помощи генной инженерии, как описано в примерах. Способы получения слитых и функционально связанных биспецифических одноцепочечных конструкций и экспрессия их в клетках млекопитающих или бактерий хорошо известны в данной области техники (например, WO 99/54440 или Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001).

Как описано выше, в изобретении предложен предпочтительный вариант осуществления изобретения, в котором конструкция антитела находится в формате, выбранном из группы, состоящей из (scFv)₂,

scFv-однодоменного mAb, диател и олигомеров любого из вышеперечисленных форматов. Термин "находится в формате" не исключает того, что конструкция может быть дополнительно модифицирована, например, путем присоединения или слияния с другими фрагментами, как описано в данном документе.

В соответствии с особенно предпочтительным вариантом осуществления изобретения и как описано в прилагаемых примерах, конструкция антитела по изобретению представляет собой "биспецифическую одноцепочечную конструкцию антитела", более предпочтительно биспецифический "одноцепочечный Fv" (scFv). Хотя два домена фрагмента Fv, VL и VH, кодируются отдельными генами, их можно объединить с применением рекомбинантных методов, при помощи синтетического линкера, как описано выше, что позволяет превратить их в одну белковую цепь в которой пары участков VL и VH образуют одновалентную молекулу; см., например, Huston et al. (1988), Proc. Natl. Acad. Sci USA, 85:5879-5883). Эти фрагменты антител получают с применением обычных методов, известных специалистам в данной области техники, и оценивают функцию фрагментов таким же образом, как в случае цельных или полно-размерных антител. Одноцепочечный варибельный фрагмент (scFv) является, следовательно, слитым белком варибельного участка тяжелой цепи (VH) и легкой цепи (VL) иммуноглобулинов, обычно связанного коротким линкерным пептидом длиной от около 10 до около 25 аминокислот, предпочтительно приблизительно от 15 до 20 аминокислот. Линкер обычно богат глицином для обеспечения гибкости, а также серином или треонином для обеспечения растворимости и может соединять N-конец VH с C-концом VL, или наоборот. Этот белок сохраняет специфичность исходного иммуноглобулина, несмотря на удаление константных участков и введение линкера.

Биспецифические одноцепочечные молекулы известны в данной области техники и описаны в WO 99/54440, Mack, J. Immunol. (1997), 158, 3965-3970, Mack, PNAS, (1995), 92, 7021-7025, Kufer, Cancer Immunol. Immunother., (1997), 45, 193-197, Löffler, Blood, (2000), 95, 6, 2098-2103, Brühl, Immunol., (2001), 166, 2420-2426, Kipriyanov, J. Mol. Biol., (1999), 293, 41-56. Описаны технологии получения одноцепочечных антител (см., среди прочего, патент США № 4946778, Kontermann and Dübel (2010), в приводившейся выше цитате, и Little (2009), в приводившейся выше цитате) могут быть адаптированы для получения конструкций одноцепочечных антител, специфически распознающих выбранную(ые) мишень(и).

Бивалентные (также называемые двухвалентными) или биспецифические одноцепочечные варибельные фрагменты (би-scFv или ди-scFv, имеющие формат (scFv)₂), могут быть сконструированы путем связывания двух молекул scFv (например, при помощи линкеров, как описано в данном документе выше). Если эти две молекулы scFv обладают одинаковой специфичностью связывания, то полученная молекула (scFv)₂ предпочтительно будет называться двухвалентной (т.е. в ней присутствуют две валентности для одного и того же целевого эпитопа). Если две молекулы scFv обладают разной специфичностью связывания, то полученная молекула (scFv)₂ предпочтительно будет называться биспецифической. Связывание может быть осуществлено путем создания одной пептидной цепи с двумя участками VH и двумя участками VL, с получением тандемных scFv (см., например, Kufer P. et al., (2004), Trends in Biotechnology, 22(5):238-244). Другой возможностью является создание молекул scFv с линкерными пептидами, слишком короткими для свертывания двух варибельных областей со сближением (например, около пяти аминокислот), что заставляет scFv димеризоваться. Этот тип известен как диатела (см., например, Hollinger, Philipp et al. (July 1993), Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 90(14):6444-8).

В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом конструкции антитела по изобретению тяжелая цепь (VH) и легкая цепь (VL) связывающего домена (связывающаяся с целевым антигеном ДПБЗ (DLL3) или с CD3 (CD3)) непосредственно не связаны посредством пептидного линкера, как описано выше, а связывающие домены образуются, как описано для диатела. Таким образом, VH связывающего домена против CD3 (CD3) может быть слит с VL связывающего домена против ДПБЗ (DLL3) посредством пептидного линкера, а VH связывающего домена против ДПБЗ (DLL3) слит с VL связывающего домена против CD3 (CD3) посредством такого пептидного линкера.

Однодоменные антитела содержат только один (мономерный) варибельный домен антитела, который способен избирательно связываться с определенным антигеном независимо от других V участков или доменов. Первые однодоменные антитела были сконструированы из антител с тяжелой цепью, найденных у верблюдовых, и они называются V_HH фрагментами. У хрящевых рыб также есть антитела тяжелой цепи (Ig_{NAR}), из которых могут быть получены однодоменные антитела, называемые фрагментами V_{NAR}. Альтернативный подход заключается в расщеплении димерных варибельных доменов из обычных иммуноглобулинов, например из организма человека или грызунов, на мономеры с получением таким образом VH или VL в виде однодоменного Ab. Хотя в данное время большинство исследований в области однодоменных антител основаны на варибельных доменах тяжелой цепи, было показано, что наночастицы, полученные из легких цепей, специфически связываются с целевыми эпитопами. Примеры однодоменных антител называются sdAb, наночастицами или антителами с одним варибельным доменом.

Таким образом, (однодоменное mAb)₂ представляет собой конструкцию моноклонального антитела, состоящую (по меньшей мере) из двух моноклональных однодоменных антител, которые индивидуально выбраны из группы, включающей VH, VL, V_{HH} и V_{NAR}. Линкер предпочтительно имеет форму пептид-

ного линкера. Аналогично, "scFv-однодоменное mAb" представляет собой конструкцию моноклонального антитела, состоящую по меньшей мере из одного однодоменного антитела, как описано выше, и одной молекулы scFv, как описано выше. Снова, линкер предпочтительно имеет форму пептидного линкера.

Дополнительно предусмотрено, что данное изобретение относится к конструкции биспецифического антитела, содержащей первый связывающий домен, который связывается с ДПБЗ (DLL3) человека на поверхности клетки-мишени, и второй связывающий домен, который связывается с СДЗ (CD3) человека на поверхности Т-клетки, причем первый связывающий домен связывается с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка, представленного SEQ ID NO: 259.

Соответственно, в дополнительном аспекте изобретения первый связывающий домен конструкции биспецифического антитела содержит участок VH, который содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, и участок VL, который содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из группы, состоящей из:

a) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 121, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 122, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 123, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 124, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 125, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 126;

b) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 131, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 132, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 134, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136;

c) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 141, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 142, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 143, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 144, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 145, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 146;

d) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 151, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 152, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 153, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 154, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 155, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 156;

e) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 161, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 162, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 163, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 164, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 165, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 166;

f) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 131, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 439, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 134, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136;

g) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 131, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 440, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 134, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136;

h) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 131, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 132, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 441, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136;

i) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 131, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 132, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 442, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136;

j) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 131, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 132, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 443, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136;

k) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 131, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 132, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 444, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136;

l) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 131, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 439, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 441, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136; и

m) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 131, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 440, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 442, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136.

В одном варианте осуществления изобретения первый связывающий домен конструкции антитела по изобретению содержит участок VH, выбранный из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 445, SEQ ID NO: 446, SEQ ID NO: 447, SEQ ID NO: 448, SEQ ID NO: 449, SEQ ID NO: 450, SEQ ID NO: 451, SEQ ID NO: 452, SEQ ID NO: 453, SEQ ID NO: 454 и SEQ ID NO: 455.

В дополнительном варианте осуществления изобретения первый связывающий домен конструкции антитела по изобретению содержит участок VL, выбранный из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 456, SEQ ID NO: 457, SEQ ID NO: 458, SEQ ID NO: 459, SEQ ID NO: 460, SEQ ID NO: 461, SEQ ID NO: 462, SEQ ID NO: 463, SEQ ID NO: 464, SEQ ID NO: 465, SEQ ID NO: 466, SEQ ID NO: 467, SEQ ID NO: 468, SEQ ID NO: 469 и SEQ ID NO: 470.

В другом варианте осуществления изобретения первый связывающий домен конструкции

антитела по изобретению содержит участок VH и участок VL, выбранные из группы, состоящей из пар участков VH и участков VL, представленных в SEQ ID NO: 127 плюс 128; SEQ ID NO: 137 плюс 138; SEQ ID NO: 147 плюс 148; SEQ ID NO: 157 плюс 158; SEQ ID NO: 167 плюс 168; SEQ ID NO: 137 плюс 456; SEQ ID NO: 137 плюс 457; SEQ ID NO: 137 плюс 458; SEQ ID NO: 137 плюс 459; SEQ ID NO: 137 плюс 460; SEQ ID NO: 445 плюс 138; SEQ ID NO: 446 плюс 138; SEQ ID NO: 447 плюс 138; SEQ ID NO: 445 плюс 460; SEQ ID NO: 448 плюс 461; SEQ ID NO: 449 плюс 462; SEQ ID NO: 450 плюс 463; SEQ ID NO: 450 плюс 464; SEQ ID NO: 450 плюс 465; SEQ ID NO: 450 плюс 466; SEQ ID NO: 450 плюс 467; SEQ ID NO: 450 плюс 468; SEQ ID NO: 451 плюс 463; SEQ ID NO: 452 плюс 463; SEQ ID NO: 453 плюс 463; SEQ ID NO: 451 плюс 468; SEQ ID NO: 454 плюс 469 и SEQ ID NO 455 плюс 470.

В дополнительном варианте осуществления изобретения первый связывающий домен конструкции антитела по изобретению содержит полипептид, выбранный из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 471, SEQ ID NO: 472, SEQ ID NO: 473, SEQ ID NO: 474, SEQ ID NO: 475, SEQ ID NO: 476, SEQ ID NO: 477, SEQ ID NO: 478, SEQ ID NO: 479, SEQ ID NO: 480, SEQ ID NO: 481, SEQ ID NO: 482, SEQ ID NO: 483, SEQ ID NO: 484, SEQ ID NO: 485, SEQ ID NO: 486, SEQ ID NO: 487, SEQ ID NO: 488, SEQ ID NO: 489, SEQ ID NO: 490, SEQ ID NO: 491, SEQ ID NO: 492 и SEQ ID NO: 493.

Вышеуказанные первые связывающие домены (обозначенные по их CDR, участку VH и участку VL и их комбинациям) характеризуются как связывающие домены, которые связываются с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка, представленного в SEQ ID NO: 259.

Другая предпочтительная конструкция антитела в соответствии с изобретением также может быть определена как конструкция биспецифического антитела, содержащая первый (предпочтительно человеческий) связывающий домен, который связывается с ДПБЗ (DLL3) человека на поверхности клетки-мишени, и второй связывающий домен, который связывается с СДЗ (CD3) человека на поверхности Т-клетки, причем первый связывающий домен связывается с тем же эпитопом ДПБЗ (DLL3), что и антитело, выбранное из группы, состоящей из ДПБЗ (DLL3)-13, ДПБЗ (DLL3)-14 и ДПБЗ (DLL3)-15, т.е. антитело, содержащее участок VH, который содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, и участок VL, который содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из группы, состоящей из:

а) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 121, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 122, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 123, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 124, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 125, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 126;

б) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 131, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 132, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 134, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136; и

с) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 141, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 142, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 143, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 144, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 145, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 146.

Другая предпочтительная конструкция антитела в соответствии с изобретением также может быть определена как конструкция биспецифического антитела, содержащая первый (предпочтительно человеческий) связывающий домен, который связывается с ДПБЗ (DLL3) человека на поверхности клетки-мишени, и второй связывающий домен, который связывается с СДЗ (CD3) человека на поверхности Т-клетки, причем первый связывающий домен конкурирует за связывание с антителом, выбранным из группы, состоящей из ДПБЗ (DLL3)-13, ДПБЗ (DLL3)-14 и ДПБЗ (DLL3)-15, т.е. антителом, содержащим участок VH, который содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, и участок VL, который содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из группы, состоящей из описанных выше.

Кроме того, предполагается, что конструкция антитела по изобретению, помимо своей функции связывания с молекулами-мишенями ДПБЗ (DLL3) и СДЗ (CD3), выполняет еще одну функцию. В этом формате конструкция антитела действует как трехфункциональная или многофункциональная конструкция антитела путем нацеливания на клетки-мишени посредством связывания с ДПБЗ (DLL3), опосредующую активность цитотоксических Т-клеток посредством связывания с СДЗ (CD3) и обеспечивающую дополнительную функцию, например посредством полностью функционального константного домена Fc, опосредующего антителозависимую клеточную цитотоксичность путем рекрутинга эффекторных клеток, таких как природные клетки-киллеры, НК-клетки, метки (флуоресцентная и т.д.), терапевтического агента, такого как токсин или радионуклид, и/или средств для увеличения периода полувыведения из сыворотки и т.д.

Примеры способов продления периода полувыведения из сыворотки конструкций антител по изобретению включают в себя пептиды, белки или белковые домены, которые слиты или иным образом присоединены к конструкциям антител. Группа пептидов, белков или белковых доменов включает в себя пептиды, связывающиеся с другими белками с предпочтительным фармакокинетическим профилем в организме человека, такими как сывороточный альбумин (см. WO 2009/127691). Альтернативная концепция таких пептидов, увеличивающих период полувыведения, включает в себя пептиды, связывающиеся с рецептором Fc новорожденных (FcRn, см. WO 2007/098420), которые также можно применять в

конструкциях по данному изобретению. Концепция присоединения более крупных белковых доменов или полноразмерных белков включает в себя, например, слияние человеческого сывороточного альбумина, вариантов или мутантов человеческого сывороточного альбумина (см. WO 2011/051489, WO 2012/059486, WO 2012/150319, WO 2013/135896, WO 2014/072481, WO 2013/075066) или их доменов, а также слияние константного участка иммуноглобулинов (доменов Fc) и их вариантов. Такие варианты доменов Fc могут быть оптимизированы/модифицированы для обеспечения желаемого спаривания димеров или мультимеров, для устранения связывания с рецептором Fc (например, рецептором Fcγ) или по другим причинам. Еще одной концепцией, известной в данной области техники для увеличения периода полувыведения белковых соединений небольшого размера из организма человека, является пегилирование этих соединений, таких как конструкция антитела по данному изобретению.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения конструкции биспецифического антитела в соответствии с изобретением могут быть связаны (например, посредством пептидной связи) с партнером по слиянию (таким как белок или полипептид или пептид), например, с целью увеличения периода полувыведения конструкции из сыворотки. Такие партнеры по слиянию могут быть выбраны из человеческого сывороточного альбумина, ЧСА ("HSA" или "HALB") в виде вариантов его последовательности, пептидов, связывающихся с ЧСА (HSA), пептидов, связывающихся с FcRn ("FcRn BP") или конструкций, содержащих (полученный из антитела) участок Fc. Типичные последовательности таких партнеров по слиянию представлены в SEQ ID NO: 295-341. В общем, партнеры по слиянию могут быть связаны с N-концом или с C-концом конструкций биспецифических антител в соответствии с изобретением непосредственно (например, посредством пептидной связи) или посредством пептидного линкера, такого как (GGGGS)_n (где "n" представляет собой целое число 2 или больше, например 2 или 3 или 4). Подходящие пептидные линкеры представлены в SEQ ID NO: 285-293.

Следовательно, предпочтительная конструкция антитела в соответствии с настоящим изобретением содержит:

(a) полипептид, содержащий в следующем порядке, начиная с N-конца:

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 437, SEQ ID NO: 471, SEQ ID NO: 472, SEQ ID NO: 473, SEQ ID NO: 474, SEQ ID NO: 475, SEQ ID NO: 476, SEQ ID NO: 477, SEQ ID NO: 478, SEQ ID NO: 479, SEQ ID NO: 480, SEQ ID NO: 481, SEQ ID NO: 482, SEQ ID NO: 483, SEQ ID NO: 484, SEQ ID NO: 485, SEQ ID NO: 486, SEQ ID NO: 487, SEQ ID NO: 488, SEQ ID NO: 489, SEQ ID NO: 490, SEQ ID NO: 491, SEQ ID NO: 492, SEQ ID NO: 493 и SEQ ID NO: 531;

пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 285-293; и

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 350, SEQ ID NO: 359, SEQ ID NO: 368, SEQ ID NO: 377, SEQ ID NO: 386, SEQ ID NO: 395, SEQ ID NO: 404, SEQ ID NO: 413, SEQ ID NO: 422, SEQ ID NO: 431 и SEQ ID NO: 434;

необязательно, метку His, такую как представлена в SEQ ID NO: 294;

(b) полипептид, содержащий в следующем порядке, начиная с N-конца:

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 437, SEQ ID NO: 471, SEQ ID NO: 472, SEQ ID NO: 473, SEQ ID NO: 474, SEQ ID NO: 475, SEQ ID NO: 476, SEQ ID NO: 477, SEQ ID NO: 478, SEQ ID NO: 479, SEQ ID NO: 480, SEQ ID NO: 481, SEQ ID NO: 482, SEQ ID NO: 483, SEQ ID NO: 484, SEQ ID NO: 485, SEQ ID NO: 486, SEQ ID NO: 487, SEQ ID NO: 488, SEQ ID NO: 489, SEQ ID NO: 490, SEQ ID NO: 491, SEQ ID NO: 492, SEQ ID NO: 493 и SEQ ID NO: 531;

пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 285-293;

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 350, SEQ ID NO: 359, SEQ ID NO: 368, SEQ ID NO: 377, SEQ ID NO: 386, SEQ ID NO: 395, SEQ ID NO: 404, SEQ ID NO: 413, SEQ ID NO: 422, SEQ ID NO: 431, и SEQ ID NO: 434;

необязательно, пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 285-293;

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 295 и 301-330; и

необязательно, метку His, такую как представлена в SEQ ID NO: 294;

(c) полипептид, содержащий в следующем порядке, начиная с N-конца:

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность QRFVTGHFGGLX₁PANG (SEQ ID NO: 296), где X₁ представляет собой Y или H; и

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоя-

шей из SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 437, SEQ ID NO: 471, SEQ ID NO: 472, SEQ ID NO: 473, SEQ ID NO: 474, SEQ ID NO: 475, SEQ ID NO: 476, SEQ ID NO: 477, SEQ ID NO: 478, SEQ ID NO: 479, SEQ ID NO: 480, SEQ ID NO: 481, SEQ ID NO: 482, SEQ ID NO: 483, SEQ ID NO: 484, SEQ ID NO: 485, SEQ ID NO: 486, SEQ ID NO: 487, SEQ ID NO: 488, SEQ ID NO: 489, SEQ ID NO: 490, SEQ ID NO: 491, SEQ ID NO: 492, SEQ ID NO: 493 и SEQ ID NO: 531;

пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 285-293;

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 350, SEQ ID NO: 359, SEQ ID NO: 368, SEQ ID NO: 377, SEQ ID NO: 386, SEQ ID NO: 395, SEQ ID NO: 404, SEQ ID NO: 413, SEQ ID NO: 422, SEQ ID NO: 431 и SEQ ID NO: 434;

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность QRFVVTGHFGGLHPANG (SEQ ID NO: 298) или QRFCTGHFGGLHPCNG (SEQ ID NO: 300); и

необязательно, метку His, такую как представлена в SEQ ID NO: 294;

(d) полипептид, содержащий в следующем порядке, начиная с N-конца:

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 348, SEQ ID NO: 357, SEQ ID NO: 366, SEQ ID NO: 375, SEQ ID NO: 384, SEQ ID NO: 393, SEQ ID NO: 402, SEQ ID NO: 411, SEQ ID NO: 420, SEQ ID NO: 429, и SEQ ID NO: 432;

пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 292;

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 436, SEQ ID NO: 456, SEQ ID NO: 457, SEQ ID NO: 458, SEQ ID NO: 459, SEQ ID NO: 460, SEQ ID NO: 461, SEQ ID NO: 462, SEQ ID NO: 463, SEQ ID NO: 464, SEQ ID NO: 465, SEQ ID NO: 466, SEQ ID NO: 467, SEQ ID NO: 468, SEQ ID NO: 469, SEQ ID NO: 470 и SEQ ID NO: 530, за которой следует остаток серина на C-конце;

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 331; и

полипептид, содержащий в следующем порядке, начиная с N-конца:

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 435, SEQ ID NO: 445, SEQ ID NO: 446, SEQ ID NO: 447, SEQ ID NO: 448, SEQ ID NO: 449, SEQ ID NO: 450, SEQ ID NO: 451, SEQ ID NO: 452, SEQ ID NO: 453, SEQ ID NO: 454 и SEQ ID NO: 455 и SEQ ID NO: 529;

пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 292;

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 349, SEQ ID NO: 358, SEQ ID NO: 367, SEQ ID NO: 376, SEQ ID NO: 385, SEQ ID NO: 394, SEQ ID NO: 403, SEQ ID NO: 412, SEQ ID NO: 421, SEQ ID NO: 430 и SEQ ID NO: 433, за которой следует остаток серина на C-конце; и

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 332;

(e) полипептид, содержащий в следующем порядке, начиная с N-конца:

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 348, SEQ ID NO: 357, SEQ ID NO: 366, SEQ ID NO: 375, SEQ ID NO: 384, SEQ ID NO: 393, SEQ ID NO: 402, SEQ ID NO: 411, SEQ ID NO: 420, SEQ ID NO: 429 и SEQ ID NO: 432;

Пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 292;

Полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 436, SEQ ID NO: 456, SEQ ID NO: 457, SEQ ID NO: 458, SEQ ID NO: 459, SEQ ID NO: 460, SEQ ID NO: 461, SEQ ID NO: 462, SEQ ID NO: 463, SEQ ID NO: 464, SEQ ID NO: 465, SEQ ID NO: 466, SEQ ID NO: 467, SEQ ID NO: 468, SEQ ID NO: 469, SEQ ID NO: 470 и SEQ ID NO: 530; и

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 333; и

полипептид, содержащий в следующем порядке, начиная с N-конца:

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 157 и SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: ID NO: 435, SEQ ID NO: 445, SEQ ID NO: 446,

SEQ ID NO: 480, SEQ ID NO: 481, SEQ ID NO: 482, SEQ ID NO: 483, SEQ ID NO: 484, SEQ ID NO: 485, SEQ ID NO: 486, SEQ ID NO: 487, SEQ ID NO: 488, SEQ ID NO: 489, SEQ ID NO: 490, SEQ ID NO: 491, SEQ ID NO: 492, SEQ ID NO: 493 и SEQ ID NO: 531;

пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 285-293;

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 350, SEQ ID NO: 359, SEQ ID NO: 368, SEQ ID NO: 377, SEQ ID NO: 386, SEQ ID NO: 395, SEQ ID NO: 404, SEQ ID NO: 413, SEQ ID NO: 422, SEQ ID NO: 431 и SEQ ID NO: 434;

полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 341.

Например, предпочтительная конструкция биспецифического антитела по данному изобретению содержит или состоит из полипептида, выбранного из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: 228, SEQ ID NO: 229, SEQ ID NO: 230, SEQ ID NO: 231, SEQ ID NO: 232, SEQ ID NO: 233, SEQ ID NO: 234, SEQ ID NO: 235, SEQ ID NO: 236, SEQ ID NO: 237; SEQ ID NO: 242, SEQ ID NO: 243, SEQ ID NO: 244, SEQ ID NO: 245, SEQ ID NO: 246, SEQ ID NO: 247, SEQ ID NO: 248, SEQ ID NO: 249, SEQ ID NO: 250 и SEQ ID NO: 251.

Как описано выше, несколько предпочтительных конструкций антител по изобретению модифицированы путем слияния с другим фрагментом, таким как альбумин или варианты альбумина. Если эти слитые конструкции характеризуются такими свойствами, как, в частности, их аффинность к мишени или цитотоксическая активность, специалист в данной области техники будет понимать, что подобные слитые конструкции или немодифицированные конструкции биспецифических антител могут обладать сходными (или, возможно, даже лучшими) свойствами. Например, если конструкция биспецифического антитела, слитая с альбумином, обладает значительной или желательной цитотоксической активностью или аффинностью к мишени, можно ожидать, такая же/сходная или даже более высокая цитотоксическая активность/аффинность к мишени будет наблюдаться для этой же конструкции без альбумина.

В соответствии с другим предпочтительным вариантом осуществления изобретения конструкция биспецифического антитела по изобретению содержит (в дополнение к двум связывающим доменам) третий домен, который содержит два полипептидных мономера, каждый из которых содержит шарнир, CH2 и домен CH3, причем указанные два полипептида (или полипептидные мономеры) слиты друг с другом при помощи пептидного линкера. Предпочтительно указанный третий домен содержит в порядке от N-к C-концу: шарнир-CH2-CH3-линкер-шарнир-CH2-CH3.

Предпочтительные аминокислотные последовательности для указанного третьего домена представлены в SEQ ID NO: 541-548. Каждый из указанных полипептидных мономеров предпочтительно имеет аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 533-540, или которая по меньшей мере на 90% идентична этим последовательностям. В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения первый и второй связывающие домены конструкции биспецифического антитела по изобретению слиты с третьим доменом посредством пептидного линкера, который, например, выбран из группы, состоящей из SEQ ID NO: 285, 286, 288, 289, 290, 292 и 293.

В соответствии с настоящим изобретением "шарнир" представляет собой шарнирный участок IgG. Этот участок может быть идентифицирован по аналогии с применением нумерации Kabat, см. положения Kabat 223-243. В соответствии с вышеизложенным минимальное требование для "шарнира" представляет собой аминокислотные остатки, соответствующие участку последовательности IgG₁ с D231 по P243 в соответствии с нумерацией Kabat. Термины CH2 и CH3 относятся к константным участкам тяжелой цепи иммуноглобулина 2 и 3. Эти участки также можно идентифицировать по аналогии с применением нумерации Kabat, см. положения Kabat 244-360 для CH2 и положения Kabat 361-478 для CH3. Подразумевается, что существует некоторая вариация между иммуноглобулинами в отношении их участка Fc IgG₁, участка Fc IgG₂, участка Fc IgG₃, участка Fc IgG₄, участка Fc IgM, участка Fc IgA, участка Fc IgD и участка Fc IgE (см., например, Padlan, Molecular Immunology, 31(3), 169-217 (1993)). Термин "мономер Fc" относится к последним двум константным участкам тяжелой цепи IgA, IgD и IgG и к последним трем константным участкам тяжелой цепи IgE и IgM. Кроме того, мономер Fc может включать в себя гибкий шарнирный N-конец к указанным доменам. В случае IgA и IgM мономер Fc может включать в себя J-цепь. Для IgG часть Fc содержит иммуноглобулиновые домены CH2 и CH3 и шарнир между первыми двумя доменами и CH2. Хотя границы части Fc иммуноглобулина могут варьировать, пример для участка Fc тяжелой цепи IgG человека, включающего функциональный шарнир, домены CH2 и CH3, может быть определен, например, как содержащий остатки с D231 (шарнирный участок) по P476 (C-конца домена CH3) или с D231 по L476 соответственно для IgG₄, где нумерация соответствует Kabat.

Конструкция антитела по изобретению может, следовательно, содержать в порядке от N- к C-концу:

- (a) первый связывающий домен;
- (b) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 286, 292 и 293;
- (c) второй связывающий домен;
- (d) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 285, 286, 288, 289, 290, 292 и 293;

(e) первый полипептидный мономер третьего домена (содержащий шарнир, CH2 и домен CH3);

(f) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 550, 551, 552 и 553; и

(g) второй полипептидный мономер третьего домена (содержащий шарнир, CH2 и домен CH3).

Кроме того конструкция антитела по изобретению предпочтительно содержит в порядке от N- к C-концу:

первый связывающий домен, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 437, SEQ ID NO: 471, SEQ ID NO: 472, SEQ ID NO: 473, SEQ ID NO: 474, SEQ ID NO: 475, SEQ ID NO: 476, SEQ ID NO: 477, SEQ ID NO: 478, SEQ ID NO: 479, SEQ ID NO: 480, SEQ ID NO: 481, SEQ ID NO: 482, SEQ ID NO: 483, SEQ ID NO: 484, SEQ ID NO: 485, SEQ ID NO: 486, SEQ ID NO: 487, SEQ ID NO: 488, SEQ ID NO: 489, SEQ ID NO: 490, SEQ ID NO: 491, SEQ ID NO: 492, SEQ ID NO: 493 и SEQ ID NO: 531;

пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 286, 292 и 293;

второй связывающий домен, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 350, SEQ ID NO: 359, SEQ ID NO: 368, SEQ ID NO: 377, SEQ ID NO: 386, SEQ ID NO: 395, SEQ ID NO: 404, SEQ ID NO: 413, SEQ ID NO: 422, SEQ ID NO: 431 и SEQ ID NO: 434;

пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 285, 286, 288, 289, 290, 292 и 293; и

третий домен, имеющий аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 541-548.

Следовательно, в предпочтительном варианте осуществления изобретения конструкция антитела по данному изобретению содержит или состоит из полипептида, выбранного из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 517, SEQ ID NO: 518, SEQ ID NO: 519, SEQ ID NO: 520, SEQ ID NO: 521, SEQ ID NO: 522, SEQ ID NO: 523, SEQ ID NO: 524, SEQ ID NO: 525, SEQ ID NO: 526, SEQ ID NO: 527 и SEQ ID NO: 528.

Дополнительно, в таблице последовательностей (табл. 18) представлены вариации последовательности связывающих агентов, обозначенных ДПБЗ (DLL3)-4 и ДПБЗ (DLL3)-14. Точечные мутации, которые были вставлены в эти варианты последовательности, идентифицированы в соответствии с положением этой мутации в соответствующей молекуле scFv. Необходимо понимать, что альтернативный способ идентификации этих положений также возможен, в зависимости от референтного полипептида, который также может быть участком CDR или участком VH/VL. Например, вариант, обозначенный как ДПБЗ (DLL3)-4-001 содержит двойную мутацию G44C-G243C в своей scFv молекуле (SEQ ID NO: 437). Она транслируется в мутацию G44C в соответствующей VH-цепи (SEQ ID NO: 435) и мутацию G101C в соответствующей VL-цепи (SEQ ID NO: 436).

Ковалентные модификации конструкций антител также включены в данное изобретение и обычно, но не всегда, осуществляются посттрансляционно. Например, несколько типов ковалентных модификаций конструкции антитела вводятся в молекулу путем взаимодействия конкретных аминокислотных остатков конструкции антитела с органическим дериватирующим агентом, который способен вступать в реакцию с выбранными боковыми цепями или N-или C-концевыми остатками.

Остатки цистеина чаще всего вводят в реакцию с α -галогенацетатами (и соответствующими аминами), такими как хлоруксусная кислота или хлорацетамид, с получением карбоксиметильных или карбоксиамидометильных производных. Кроме того, остатки цистеина дериватируют введением в реакцию с бромтрифторацетоном, α -бром- β -(5-имидазоил)пропионовой кислотой, хлорацетилфосфатом, N-алкилмалеинимидами, 3-нитро-2-пиридилдисульфидом, метил-2-пиридилдисульфидом, p-хлорртуть-бензоатом, 2-хлорртуть-4-нитрофенолом или хлор-7-нитробензо-2-окса-1,3-диазолом.

Гистидиновые остатки дериватируют введением в реакцию с диэтилпирокарбонатом при pH 5,5-7,0, поскольку этот агент относительно специфичен в отношении гистидиновой боковой цепи. Подходящим является также пара-бромфенацилбромид; реакцию предпочтительно проводят в 0,1 М какодилате натрия при pH 6,0. Лизиновые и аминоконцевые остатки вводят в реакцию с ангидридами янтарной или других карбоновых кислот. Дериватизация при помощи этих агентов приводит к изменению заряда остатков лизина на противоположный. Другие подходящие реагенты для дериватизации альфа-аминосодержащих остатков включают в себя имидоэфиры, такие как метилпиколинимидат; пиридоксальфосфат; пиридоксаль; хлорборгидрид; тринитробензолсульфоновая кислота; O-метилизомочевину; 2,4-пентандион; и катализируемую трансаминазой реакцию с глиоксилатом.

Остатки аргинина модифицируют введением в реакцию с одним или несколькими обычными реагентами, среди которых фенилглиоксаль, 2,3-бутандион, 1,2-циклогександион и нингидрин. Дериватизация остатков аргинина требует, чтобы реакция проводилась в щелочных условиях из-за высокого значе-

ния рКа гуанидиновой функциональной группы. Кроме того, эти реагенты могут вступать в реакцию с группами лизина, а также с ипсилон-аминогруппой аргинина.

Конкретную модификацию тирозильных остатков можно осуществить с конкретной целью введения спектральных меток в тирозильные остатки путем введения в реакцию с ароматическими соединениями диазония или тетранитрометаном. Чаще всего N-ацетилимидазол и тетранитрометан применяют для образования O-ацетилтирозильных соединений и 3-нитропроизводных соответственно. Тирозильные остатки йодируют с применением ^{125}I или ^{131}I , получая меченые белки для применения в радиоиммунологическом анализе, причем подходящим является описанный выше способ с применением хлорамина Т.

Карбоксильные боковые группы (аспартил или глутамил) избирательно модифицируют введением в реакцию с карбодиимидами ($\text{R}'\text{-N}=\text{C}=\text{N-R}'$), где R и R' представляют собой необязательно разные алкильные группы, такими как 1-циклогексил-3-(2-морфолинил-4-этил)карбодиимид или 1-этил-3-(4-азоний-4,4-диметилпентил)карбодиимид. Кроме того, аспартильные и глутамильные остатки превращают в аспарагинильные и глутаминильные остатки введением в реакцию с ионами аммония.

Дериватизация при помощи бифункциональных агентов пригодна для поперечного сшивания конструкций антители по данному изобретению с нерастворимой в воде матрицей подложки или поверхностью для применения различными способами. Обычно применяемые поперечно сшивающие агенты включают в себя, например, 1,1-бис-(диазоацетил)-2-фенилэтан, глутаровый альдегид, эфиры N-гидроксисукцинимиды, например, сложные эфиры с 4-азидосалициловой кислотой, гомобифункциональные имидоэфиры, включая дисукцинимидиловые сложные эфиры, такие как 3,3'-дитиобис-(сукцинимидилпропионат) и бифункциональные малеинимиды, такие как бис-N-малеинимидо-1,8-октан. Дериватирующие агенты, такие как метил-3-[(п-азидофенил)дитио]пропиоимидат, дают промежуточные фотоактивируемые соединения, которые способны образовывать поперечные связи под действием света. В качестве альтернативы, реакционноспособные нерастворимые в воде матрицы, такие как активированные цианогена бромидом углеводы и реакционноспособные субстраты, описанные в патентах США № 3969287; 3691016; 4195128; 4247642; 4229537 и 4330440 применяются для иммобилизации белка.

Глутаминильные и аспарагинильные остатки часто дезамидируют до соответствующих глутамильных и аспартильных остатков. В качестве альтернативы, эти остатки дезамидируют в слабокислых условиях. Любая форма этих остатков включена в данное изобретение.

Другие модификации включают в себя гидроксирование пролина и лизина, фосфорилирование гидроксильных групп остатков серина или треонина, метилирование α -аминогрупп в боковых цепях лизина, аргинина и гистидина (Т.Е. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W.H. Freeman & Co., San Francisco, 1983, p. 79-86), ацетилирование N-концевого амина и амидирование любой C-концевой карбоксильной группы.

Другой вид ковалентной модификации конструкций антители, включенных в данное изобретение, включает в себя модификацию характера гликозилирования белка. Как известно в данной области техники, характер гликозилирования может зависеть как от последовательности белка {например, наличия или отсутствия гликозилирования отдельных аминокислотных остатков, обсуждаемых ниже}, так и от клетки-хозяина или организма, в котором образуется белок. Конкретные системы экспрессии рассмотрены ниже.

Гликозилирование полипептидов обычно является N-связанным или O-связанным. N-связанный относится к присоединению углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагинового остатка. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X представляет собой любую аминокислоту, кроме пролина, являются распознаваемыми последовательностями для ферментативного присоединения углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагина. Таким образом, присутствие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает 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 могут применяться 5-гидроксипролин или 5-гидроксизин.

Добавление сайтов гликозилирования к конструкции антителя обычно осуществляют путем модификации аминокислотной последовательности таким образом, чтобы она содержала одну или большее количество описанных выше трипептидных последовательностей (для сайтов N-связанного гликозилирования). Кроме того, модификация может быть осуществлена путем добавления или замещения одного или большего количества остатков серина или треонина в исходной последовательности (для сайтов, связанных с O-гликозилированием). Для удобства аминокислотную последовательность конструкции антителя предпочтительно модифицируют при помощи изменений на уровне ДНК, в частности путем мутации ДНК, кодирующей полипептид, в заранее выбранных основаниях, таким образом, что образуются кодоны, которые будут транслироваться в необходимые аминокислоты.

Другой способ увеличения количества углеводных фрагментов на конструкции антителя представляет собой химическое или ферментативное связывание гликозидов с белком. Преимущество таких методов состоит в том, что они не требуют продуцирования белка в клетке-хозяине, которая обладает способностью к гликозилированию для N- и O-связанного гликозилирования. В зависимости от применяе-

мого способа связи, сахар(а) может(гут) быть присоединен(ы) к (а) аргинину и гистидину, (b) свободным карбоксильным группам, (c) свободным сульфгидрильным группам, таким как в цистеине, (d) свободным гидроксильным группам, таким как группы серина, треонина или гидроксипролина, (e) ароматическим остаткам, таким как остатки фенилаланина, тирозина или триптофана, или (f) амидной группе глутамина. Эти способы описаны в WO 87/05330 и в Aplin and Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., p. 259-306.

Удаление углеводных фрагментов, присутствующих в исходной конструкции антитела, может быть осуществлено химически или ферментативно. Химическое дегликозилирование требует воздействия на белок соединения трифторметансульфоновой кислоты или эквивалентного соединения. Такая обработка приводит к расщеплению большинства или всех сахаров, за исключением линкерного сахара (N-ацетилглюкозамина или N-ацетилгалактозамина), оставляя полипептид интактным. Химическое дегликозилирование описано Nakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259:52 и Edge et al., 1981, Anal. Biochem. 118:131. Ферментативное расщепление углеводных фрагментов на полипептидах может быть достигнуто путем применения множества эндо- и экзогликозидаз, как описано Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol. 138:350. Гликозилирование на потенциальных сайтах гликозилирования может быть предотвращено при помощи соединения туникамицина, как описано Duskin et al., 1982, J. Biol. Chem. 257:3105. Туникамицин блокирует образование белок-N-гликозидных связей.

Другие модификации конструкции антитела также включены в данное изобретение. Например, другой вид ковалентной модификации конструкции антитела включает в себя связывание конструкции антитела с различными небелковыми полимерами, включая, но не ограничиваясь этим, различные полиолы, такие как полиэтиленгликоль, полипропиленгликоль, полиоксиалкилены или сополимеры полиэтиленгликоля и полипропиленгликоля, способом, описанным в патентах США № 4640835; 4496689; 4301144; 4670417; 4791192 или 4179337. Кроме того, как известно в данной области техники, замены аминокислот могут быть произведены в различных положениях внутри конструкции антитела, например, для упрощения добавления полимеров, таких как ПЭГ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ковалентная модификация конструкций антител по изобретению включает в себя добавление одной или большего количества меток. Группа метки может быть соединена с конструкцией антитела посредством спейсерных плеч различной длины, чтобы уменьшить потенциальное стерическое затруднение. Различные способы введения меток в белки известны в данной области техники и могут применяться при реализации данного изобретения. Термин "метка" или "маркерная группа" относится к любой обнаруживаемой метке. В общем, метки делятся на различные классы, в зависимости от анализа, в котором они должны быть обнаружены, следующие примеры включают в себя, но не ограничиваясь этим:

a) изотопные метки, которые могут быть радиоактивными или тяжелыми изотопами, такими как радиоизотопы или радионуклиды (например, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I);

b) магнитные метки (например, магнитные частицы);

c) группы с окислительно-восстановительной активностью;

d) оптические красители (включая, но не ограничиваясь этим, хромофоры, люминофоры и флуорофоры), такие как флуоресцентные группы (например, флуоресцеин изотиоцианат, ФИТЦ (FITC), родамин, лантаноидные люминофоры), хемиллюминесцентные группы и флуорофоры, которые могут представлять собой "низкомолекулярные" -форы или белковые -форы;

e) ферментативные группы (например, пероксидаза хрена, β -галактозидаза, люцифераза, щелочная фосфатаза);

f) биотинилированные группы;

g) predetermined полипептидные эпитопы, распознаваемые вторичным репортером (например, последовательности пар лейцинового zipper, сайты связывания для вторичных антител, связывающиеся с металлами домены, метки эпитопа и т.д.).

Под "флуоресцентной меткой" понимается любая молекула, которая может быть обнаружена вследствие присущих ей флуоресцентных свойств. Подходящие флуоресцентные метки включают в себя, но не ограничиваясь этим, флуоресцеин, родамин, тетраметилборамин, эозин, эритрозин, кумарин, метилкумарины, пирен, малахитовый зеленый, стильбен, люцифер желтый, каскадный голубой, тexasский красный, IAEDANS, EDANS, BODIPY FL, LC красный 640, Cy 5, Cy 5.5, LC красный 705, орегонский зеленый, красители Alexa-Fluor (Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680), каскадный голубой, каскадный желтый и R-фиоксэритрин, ФЭ (PE) (Molecular Probes, Юджин, штат Орегон), ФИТЦ (FITC), родамин и Texasский красный (Pierce, Рокфорд, штат Иллинойс), Cy5, Cy5.5, Cy7 (Amersham Life Science, Питтсбург, Пенсильвания). Подходящие оптические красители, включая флуорофоры, описаны Richard P. Haugland в Molecular Probes Handbook.

Кроме того, подходящие белковые флуоресцентные метки включают в себя, но не ограничиваясь этим, зеленый флуоресцентный белок, в том числе ЗФБ (GFP) видов Renilla, Ptilosarcus или Aequorea (Chalfie et al., 1994, Science, 263:802-805), усиленный зеленый флуоресцентный белок, УЗФБ (EGFP) (Clontech Laboratories, Inc., учетный номер Genbank U55762), синий флуоресцентный белок, СФБ (BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de Maisonneuve Blvd. West, 8th Floor, Montreal, Quebec, Canada H3N

1J9; Stauber, 1998, Biotechniques 24: 462-471; Heim et al., 1996, *Curr. Biol.* 6: 178-182), усиленный желтый флуоресцентный белок, УЖФБ (EYFP, Clontech Laboratories, Inc.), люциферазу (Ichiki et al., 1993, *J. Immunol.* 150:5408-5417) β -галактозидазу (Nolan et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2603-2607) и Renilla (WO 92/15673, WO 95/07463, WO 98/14605, WO 98/26277, WO 99/49019, патенты США № 5292658, 5418155, 5683888, 5741668, 5777079, 5804387, 5874304, 5876995, 5925558).

Домены лейцинового зиппера представляют собой пептиды, которые способствуют олигомеризации белков, в которых они обнаружены. Лейциновые зипперы первоначально были идентифицированы в нескольких ДНК-связывающих белках (Landschulz et al., 1988, *Science*, 240:1759) и с тех пор обнаружены во множестве различных белков. Среди известных лейциновых зипперов встречающиеся в природе пептиды и их производные, которые димеризуют или тримеризуют. Примеры доменов лейцинового зиппера, подходящих для получения растворимых олигомерных белков, описаны в заявке РСТ WO 94/10308, а лейциновый зиппер, полученный из белка D сурфактанта легких SPD, описан в Hoppe et al., 1994, *FEBS Letters*, 344:191. Применение модифицированного лейцинового зиппера, который обеспечивает стабильную тримеризацию слитого с ним гетерологичного белка, описано в Fanslow et al., 1994, *Semin. Immunol.* 6:267-78. В одном из подходов рекомбинантные слитые белки, содержащие фрагмент или производное антитела против ДПБЗ (DLL3), слитые с пептидом лейцинового зиппера, экспрессируются в подходящих клетках-хозяевах, а растворимые олигомерные фрагменты антитела против ДПБЗ (DLL3) или производные, которые образуются, выделяют из супернатанта культуры.

Кроме того, конструкция антитела по изобретению может содержать дополнительные домены, которые, например, являются полезными для выделения молекулы или имеют отношение к адаптированному фармакокинетическому профилю молекулы. Домены, полезные для выделения конструкции антитела, могут быть выбраны из пептидных мотивов или вторично введенных фрагментов, которые могут быть захвачены в способе выделения, например, колонкой для выделения. Неограничивающие варианты таких дополнительных доменов включают в себя пептидные мотивы, известные как маркер Мус, маркер НАТ, маркер НА, маркер ТАР, маркер GST, связывающий домен хитина, СДХ (маркер CBD), мальтозосвязывающий белок, МСБ (маркер МБР), маркер Flag, маркер Strep и их варианты (например, маркер StrepII) и маркер His. Все описанные в данном изобретении конструкции антител, характеризующиеся идентифицированными CDR, предпочтительно содержат домен маркера His, который обычно известен как повтор последовательных остатков His в аминокислотной последовательности молекулы, предпочтительно пяти и более предпочтительно шести остатков His (гексагистидин). Маркер His может быть расположен, например, на N- или C-конце конструкции антитела, предпочтительно он расположен на C-конце. Наиболее предпочтительно гексагистидиновый маркер (НННННН) соединен посредством пептидной связи с C-концом конструкции антитела в соответствии с изобретением.

Первый связывающий домен конструкции антитела по данному изобретению связывается с ДПБЗ (DLL3) человека на поверхности клетки-мишени. Предпочтительная аминокислотная последовательность ДПБЗ (DLL3) человека представлена в SEQ ID NO: 252. Необходимо понимать, что термин "на поверхности" в контексте данного изобретения означает, что связывающий домен специфически связывается с эпитопом, содержащимся в пределах внеклеточного домена ДПБЗ (DLL3), ДПБЗ (DLL3), ДПБЗ (DLL3) ECD. Следовательно, первый связывающий домен в соответствии с изобретением предпочтительно связывается с ДПБЗ (DLL3), когда последний экспрессируется естественным образом экспрессирующими клетками или клеточными линиями и/или клетками или клеточными линиями, трансформированными или (стабильно/временно) трансфектированными ДПБЗ (DLL3). В предпочтительном варианте осуществления изобретения первый связывающий домен дополнительно связывается с ДПБЗ (DLL3), когда ДПБЗ (DLL3) применяется в качестве молекулы "мишени" или "лиганда" в анализе связывания *in vitro*, таком как *Biacore* или *Scatchard*. "Клетка-мишень" может быть любой прокариотической или эукариотической клеткой, экспрессирующей ДПБЗ (DLL3) на своей поверхности; предпочтительно клетка-мишень представляет собой клетку, которая является частью организма человека или животного, такую как клетка специфически экспрессирующего ДПБЗ (DLL3) рак или опухоли.

Термин "ДПБЗ (DLL3) ECD" относится к форме ДПБЗ (DLL3), которая по существу не содержит трансмембранных и цитоплазматических доменов ДПБЗ (DLL3). Специалисту в данной области техники будет понятно, что трансмембранный домен, идентифицированный для полипептида ДПБЗ (DLL3) по данному изобретению, идентифицируется в соответствии с критериями, обычно применяемыми в данной области техники для идентификации гидрофобного домена такого типа. Точные границы трансмембранного домена могут варьироваться, но, скорее всего, не более чем примерно на пять аминокислот на обоих концах домена, конкретно указанных в данном документе. Предпочтительный ДПБЗ (DLL3) ECD человека представлен в SEQ ID NO: 253.

Аффинность первого связывающего домена против ДПБЗ (DLL3) человека предпочтительно составляет меньше или равна 20 нМ, более предпочтительно меньше или равна 10 нМ, еще более предпочтительно меньше или равна 5 нМ, еще более предпочтительно меньше или равна 2 нМ, еще более предпочтительно меньше или равна 1 нМ, еще более предпочтительно меньше или равна 0,6 нМ, еще более предпочтительно меньше или равна 0,5 нМ и наиболее предпочтительно меньше или равна 0,4 нМ. Аффинность может быть измерена, например, в анализе *Biacore* или в анализе *Scatchard*, например, как опи-

сано в примерах. Кроме того, специалисту в данной области техники хорошо известны другие способы определения аффинности.

Т-клетки или Т-лимфоциты представляют собой вид лимфоцитов (которые сами по себе являются видом белых кровяных клеток), который играет центральную роль в клеточно-опосредованном иммунитете. Существует несколько подмножеств Т-клеток, каждое из которых выполняет собственную функцию. Т-клетки можно отличить от других лимфоцитов, таких как В-клетки и NK-клетки, по наличию Т-клеточного рецептора (TCR) на поверхности клетки. TCR отвечает за распознавание антигенов, связанных с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС), и состоит из двух различных белковых цепей. В 95% Т-клеток (TCR) состоит из альфа (α) и бета (β) цепей. При взаимодействии TCR с антигенным пептидом и МНС (комплекс пептида/МНС) Т-лимфоцит активизируется посредством ряда биохимических событий, опосредуемых связанными ферментами, корецепторами, специализированными адаптивными молекулами и активируемыми или высвобождаемыми транскрипционными факторами.

Рецепторный комплекс CD3 (CD3) представляет собой белковый комплекс и состоит из четырех цепей. У млекопитающих комплекс содержит цепь (CD3 (CD3)) γ (гамма), цепь (CD3 (CD3)) δ (дельта) и две цепи (CD3 (CD3)) ϵ (ипсилон). Эти цепи связываются с Т-клеточным рецептором, ТКР (TCR) и так называемой ζ (дзета) цепью с образованием комплекса Т-клеточного рецептора-CD3 (CD3) и генерируют сигнал активации в Т-лимфоцитах. Цепи (CD3 (CD3)) γ (гамма), (CD3 (CD3)) δ (дельта) и (CD3 (CD3)) ϵ (ипсилон) представляют собой белки клеточной поверхности, в высокой степени родственные суперсемейству иммуноглобулина, содержащему один внеклеточный домен иммуноглобулина.

Внутриклеточные хвосты молекул CD3 (CD3) содержат один консервативный мотив, известный как мотив активации иммунорецептора на основе тирозина или сокращенно ITAM, который необходим для способности TCR к проведению сигнала. Молекула CD3 (CD3) ипсилон представляет собой полипептид, который у человека кодируется геном CD3 (CD3)E, находящимся на хромосоме 11. Наиболее предпочтительный эпитоп CD3 (CD3) ипсилон содержится в пределах аминокислотных остатков 1-27 внеклеточного домена CD3 (CD3) ипсилон человека.

Переадресованный лизис клеток-мишеней посредством рекрутинга Т-клеток при помощи конструкции полиспецифического, по меньшей мере биспецифического антитела включает в себя образование цитолитического синапса и доставку перфорина и гранзимов. Задействованные Т-клетки способны к серийному лизису клеток-мишеней и на них не влияют механизмы ускользания от иммунного ответа, препятствующие процессированию и презентации пептидного антигена или клональной дифференцировке Т-клеток; см., например, WO 2007/042261.

Цитотоксичность, опосредованная конструкциями биспецифических антител против ДПБ3 (DLL3) \times CD3 (CD3), может быть измерена различными способами. См. Примеры с 8.1 по 8.7. Эффекторными клетками могут быть, например, стимулированные обогащенные (человеческие) CD8-позитивные Т-клетки или нестимулированные (человеческие) мононуклеарные клетки периферической крови, МКПК (PBMC). Если клетки-мишени получены от макака или экспрессируются или трансфектированы при помощи ДПБ3 (DLL3) макака, то эффекторные клетки также должны быть получены от макака, например линия Т-клеток макака, например 4119LpPx. Клетки-мишени должны экспрессировать (по меньшей мере, внеклеточный домен) ДПБ3 (DLL3), например ДПБ3 (DLL3) человека или макака. Клетки-мишени могут быть клеточной линией (такой как CHO), которая стабильно или временно трансфектирована ДПБ3 (DLL3), например ДПБ3 (DLL3) человека или макака. В качестве альтернативы, клетки-мишени могут представлять собой линию клеток, естественным образом экспрессирующих ДПБ3 (DLL3), такую как клеточная линия карциномы легкого человека SHP-77. Как правило, ожидается, что значения EC₅₀ будут ниже для линий клеток-мишеней, экспрессирующих более высокие уровни ДПБ3 (DLL3) на поверхности клетки. Соотношение эффекторов и клеток-мишеней (Э:М) обычно составляет около 10:1, но может также варьировать. Цитотоксическую активность конструкций биспецифических антител против ДПБ3 (DLL3) \times CD3 (CD3) можно измерить в анализе высвобождения хрома-51 (время инкубации около 18 ч) или в анализе цитотоксичности на основе СКАФ (FACS) (время инкубации около 48 ч). Изменения времени инкубации в анализе (цитотоксическая реакция) также возможны. Другие методы измерения цитотоксичности хорошо известны специалисту в данной области техники и включают в себя колориметрические анализы для оценки метаболической активности клеток МТТ или MTS, анализы на основе АТФ, включая билюминесцентные анализы, анализ с сульфородамино В, СРБ (SRB), WST-анализ, клоногенный анализ и технологию электрического клетки с субстратом импеданса ECIS.

Цитотоксическую активность, опосредованную конструкциями биспецифических антител против ДПБ3 (DLL3) \times CD3 (CD3) по данному изобретению, предпочтительно измеряют в анализе цитотоксичности на клеточной основе. Кроме того, ее можно измерить в анализе высвобождения хрома-51. Ее выражают как значение EC₅₀, что соответствует концентрации, обеспечивающей 50% от максимально возможного эффекта (концентрация конструкции антитела, которая индуцирует цитотоксический ответ с половинной интенсивностью между фоновым значением и максимумом). Предпочтительно значение EC₅₀ для конструкций биспецифических антител против ДПБ3 (DLL3) \times CD3 (CD3) меньше или равно 5000 пМ или меньше или равно 4000 пМ, более предпочтительно меньше или равно 3000 пМ или меньше

или равно 2000 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 1000 пМ или меньше или равно 500 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 400 пМ или меньше или равно 300 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 200 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 100 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 50 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 20 пМ или меньше или равно 10 пМ и наиболее предпочтительно меньше или равно 5 пМ.

Вышеуказанные значения EC_{50} могут быть измерены в разных анализах. Специалист в данной области техники будет понимать, что ожидается меньшее значение EC_{50} , если стимулированные/обогащенные $CD8^+$ Т-клетки применяются в качестве эффекторных клеток по сравнению с нестимулированными РВМС. Кроме того, можно ожидать, что значение EC_{50} будет ниже, если клетки-мишени экспрессируют большее количество целевого антигена по сравнению с крысой с низким уровнем экспрессии мишени. Например, если стимулированные/обогащенные $CD8^+$ Т-клетки человека применяют в качестве эффекторных клеток (и трансфектированные ДПБЗ (DLL3) клетки, такие как клетки яичника китайского хомяка, CHO или ДПБЗ (DLL3)-положительную клеточную линию карциномы легкого человека SHP-77 применяют в качестве клеток-мишеней), то значение EC_{50} конструкции биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) предпочтительно меньше или равно 1000 пМ, более предпочтительно меньше или равно 500 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 250 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 100 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 50 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 10 пМ и наиболее предпочтительно меньше или равно 5 пМ. Если РВМС человека применяют в качестве эффекторных клеток, то значение EC_{50} конструкции биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) предпочтительно меньше или равно 5000 пМ или меньше или равно 4000 пМ (в частности, если клетки-мишени представляют собой ДПБЗ (DLL3)-положительную клеточную линию карциномы легкого человека SHP-77), более предпочтительно меньше или равно 2000 пМ (в частности, если клетки-мишени представляют собой трансфектированные ДПБЗ (DLL3) клетки, такие как клетки CHO), более предпочтительно меньше или равно 1000 пМ или меньше или равно 500 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 200 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 150 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 100 пМ и наиболее предпочтительно меньше или равно 50 пМ или ниже. Если линия Т-клеток макака, такая как LnPx4119, применяется в качестве эффекторных клеток, а клетки, трансфектированные ДПБЗ (DLL3) макака, такие как клетки CHO, применяются в качестве линии клеток-мишеней, то значение EC_{50} конструкции биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) предпочтительно меньше или равно 2000 пМ или меньше или равно 1500 пМ, более предпочтительно меньше или равно 1000 пМ или меньше или равно 500 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 300 пМ или меньше или равно 250 пМ, еще более предпочтительно меньше или равно 100 пМ и наиболее предпочтительно меньше или равно 50 пМ.

Предпочтительно конструкции биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) по данному изобретению не вызывают/не опосредуют лизис или по существу не вызывают/не опосредуют лизис ДПБЗ (DLL3)-отрицательных клеток, таких как клетки CHO. Термин "не вызывать лизиса", "по существу не вызывать лизиса", "не опосредовать лизис" или "по существу не опосредовать лизис" означает, что конструкция антитела по данному изобретению не вызывает или не опосредует лизис более чем 30%, предпочтительно не более чем 20%, более предпочтительно не более чем 10%, особенно предпочтительно не более чем 9, 8, 7, 6 или 5% ДПБЗ (DLL3)-отрицательных клеток, причем лизис ДПБЗ (DLL3)-положительной клеточной линии карциномы легкого человека SHP-77 (см. выше) принимается за 100%. Это обычно применимо к концентрациям конструкции антитела до 500 нМ. Специалисту в данной области техники известно, как измерить лизис клеток без ненужного экспериментирования. Кроме того, в данном документе приведены конкретные инструкции по измерению лизиса клеток.

Различие в цитотоксической активности между мономерной и димерной изоформами отдельных конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) называется "зазором активности". Такой зазор активности может быть, например, вычислен как соотношение между значениями EC_{50} мономерной и димерной форм молекул, см. Пример 15. Зазоры активности конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) по данному изобретению предпочтительно меньше или равны 5, более предпочтительно меньше или равны 4, еще более предпочтительно меньше или равны 3, еще более предпочтительно меньше или равны 2 и наиболее предпочтительно меньше или равны 1.

Первый и/или второй (или любой другой) связывающий(е) домен(ы) конструкции антитела по изобретению предпочтительно обладает(ют) перекрестно-видовой специфичностью в отношении членов порядка приматов млекопитающих. Обладающие перекрестно-видовой специфичностью СДЗ (CD3)-связывающие домены, например, описаны в WO 2008/119567. Согласно одному варианту осуществления изобретения первый и/или второй связывающий домен в дополнение к связыванию с ДПБЗ (DLL3) человека и СДЗ (CD3) человека, соответственно, будет также связываться с ДПБЗ (DLL3)/СДЗ (CD3) приматов, включая (но не ограничиваясь этим) приматов Нового Света (таких как *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* или *Saimiri sciureus*), приматов Старого Света (таких как бабуины и макаки), гиббонов, орангутангов и представителей семейства гоминид, не относящихся к человеку. Предполагается, что первый связывающий домен конструкции антитела по изобретению, который свя-

зывается с ДПБЗ (DLL3) человека на поверхности клетки-мишени, также связывается по меньшей мере с ДПБЗ (DLL3) макака, и/или второй связывающий домен, который связывается с СДЗ (CD3) человека на поверхности Т-клетки, также связывает по меньшей мере с СДЗ (CD3) макака. Предпочтительным макаком является *Macaca fascicularis*. Кроме того, включен *Macaca mulatta* (резус).

Предпочтительная конструкция биспецифического антитела по изобретению содержит первый связывающий домен, который связывается с ДПБЗ (DLL3) человека на поверхности клетки-мишени, и второй связывающий домен, который связывается с СДЗ (CD3) человека на поверхности Т-клетки и по меньшей мере с СДЗ (CD3) макака. В одном аспекте этого варианта осуществления изобретения первый связывающий домен связывается с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка, представленного в SEQ ID NO: 260.

В одном аспекте изобретения первый связывающий домен связывается с ДПБЗ (DLL3) человека и дополнительно связывается с ДПБЗ (DLL3) макака, таким как ДПБЗ (DLL3) *Macaca fascicularis* и более предпочтительно, с ДПБЗ (DLL3)-ВКД макака. Предпочтительный ДПБЗ (DLL3) *Macaca fascicularis* представлен в SEQ ID NO: 271. Предпочтительный ДПБЗ (DLL3)-ВКД макака представлен в SEQ ID NO: 272. Аффинность первого домена связывания для ДПБЗ (DLL3) макака предпочтительно меньше или равна 15 нМ, более предпочтительно меньше или равна 10 нМ, еще более предпочтительно меньше или равна 5 нМ, еще более предпочтительно меньше или равна 1 нМ, еще более предпочтительно меньше или равна 0,5 нМ, еще более предпочтительно меньше или равна 0,1 нМ и наиболее предпочтительно меньше или равна 0,05 нМ или даже меньше или равна 0,01 нМ.

Предпочтительно зазор аффинности конструкций антител в соответствии с изобретением для связывания ДПБЗ (DLL3) макака и ДПБЗ (DLL3) [ма ДПБЗ (DLL3):hu ДПБЗ (DLL3)] (по данным, например, анализа *BiaCore* или *Scatchard*) составляет от 0,1 до 10, более предпочтительно от 0,2 до 5, еще более предпочтительно от 0,3 до 4, еще более предпочтительно от 0,5 до 3 или от 0,5 до 2,5 и наиболее предпочтительно от 0,5 до 2 или от 0,6 до 2, см. примеры 3 и 4.

В одном варианте конструкции антитела по изобретению второй связывающий домен связывается с СДЗ (CD3) ипсилон человека и с СДЗ (CD3) ипсилон *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* или *Saimiri sciureus*. Предпочтительно, второй связывающий домен связывается с внеклеточным эпитопом этих цепей СДЗ (CD3) ипсилон. Также предполагается, что второй связывающий домен связывается с внеклеточным эпитопом цепи СДЗ (CD3) ипсилон человека и *Macaca*. Наиболее предпочтительный эпитоп СДЗ (CD3) ипсилон содержится в пределах аминокислотных остатков 1-27 внеклеточного домена СДЗ (CD3) ипсилон человека. Даже более конкретно, эпитоп содержит по меньшей мере аминокислотную последовательность Gln-Asp-Gly-Asn-Glu. *Callithrix jacchus* и *Saguinus oedipus* оба являются приматами Нового Света, принадлежащими к семейству *Callitrichidae*, тогда как *Saimiri sciureus* является приматом Нового Света, принадлежащим к семейству *Cebidae*.

Особенно предпочтительно в конструкции антитела по данному изобретению второй связывающий домен, который связывается с СДЗ (CD3) человека на поверхности Т-клетки, содержит участок VL, который содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из:

(a) CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 27 WO 2008/119567, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 28 WO 2008/119567 и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 29 WO 2008/119567;

(b) CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 117 WO 2008/119567, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 118 WO 2008/119567 и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 119 WO 2008/119567; и

(c) CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 153 WO 2008/119567, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 154 WO 2008/119567 и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 155 WO 2008/119567.

В альтернативном предпочтительном варианте конструкции антитела по данному изобретению второй связывающий домен, который связывается с СДЗ (CD3) человека на поверхности Т-клетки, содержит участок VH, который содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из:

(a) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 12 WO 2008/119567, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 13 WO 2008/119567 и CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 14 WO 2008/119567;

(b) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 30 WO 2008/119567, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 31 WO 2008/119567 и CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 32 WO 2008/119567;

(c) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 48 WO 2008/119567, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 49 WO 2008/119567 и CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 50 WO 2008/119567;

(d) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 66 WO 2008/119567, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 67 WO 2008/119567 и CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 68 WO 2008/119567;

(e) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 84 WO 2008/119567, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 85 WO 2008/119567 и CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 86 WO 2008/119567;

(f) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 102 WO 2008/119567, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 103 WO 2008/119567 и CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 104 WO 2008/119567;

(g) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 120 WO 2008/119567, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 121 WO 2008/119567 и CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 122 WO 2008/119567;

(h) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 138 WO 2008/119567, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 139 WO 2008/119567 и CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 140 WO 2008/119567;

(i) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 156 WO 2008/119567, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 157 WO 2008/119567 и CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 158 WO 2008/119567; и

(j) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 174 WO 2008/119567, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 175 WO 2008/119567 и CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 176 WO 2008/119567.

Кроме того в конструкциях антитела по данному изобретению второй связывающий домен, который связывается с CD3 (CD3) человека на поверхности Т-клетки, предпочтительно содержит участок VL, выбранный из группы, состоящей из участка VL, представленного в SEQ ID NO: 35, 39, 125, 129, 161 или 165 WO 2008/119567.

В качестве альтернативы второй связывающий домен, который связывается с CD3 (CD3) человека на поверхности Т-клетки, предпочтительно содержит участок VH, выбранный из группы, состоящей из участка VH, представленного в SEQ ID NO: 15, 19, 33, 37, 51, 55, 69, 73, 87, 91, 105, 109, 123, 127, 141, 145, 159, 163, 177 или 181 WO 2008/119567.

Более предпочтительно конструкция антитела по данному изобретению характеризуется вторым связывающим доменом, который связывается с CD3 (CD3) человека на поверхности Т-клетки, содержащим участок VL и участок VH, выбранные из группы, состоящей из:

(a) участка VL, представленного в SEQ ID NO: 17 или 21 WO 2008/119567, и участка VH, представленного в SEQ ID NO: 15 или 19 WO 2008/119567;

(b) участка VL, представленного в SEQ ID NO: 35 или 39 WO 2008/119567, и участка VH, представленного в SEQ ID NO: 33 или 37 WO 2008/119567;

(c) участка VL, представленного в SEQ ID NO: 53 или 57 WO 2008/119567, и участка VH, представленного в SEQ ID NO: 51 или 55 WO 2008/119567;

(d) участка VL, представленного в SEQ ID NO: 71 или 75 WO 2008/119567, и участка VH, представленного в SEQ ID NO: 69 или 73 WO 2008/119567;

(e) участка VL, представленного в SEQ ID NO: 89 или 93 WO 2008/119567, и участка VH, представленного в SEQ ID NO: 87 или 91 WO 2008/119567;

(f) участка VL, представленного в SEQ ID NO: 107 или 111 WO 2008/119567, и участка VH, представленного в SEQ ID NO: 105 или 109 WO 2008/119567;

(g) участка VL, представленного в SEQ ID NO: 125 или 129 WO 2008/119567, и участка VH, представленного в SEQ ID NO: 123 или 127 WO 2008/119567;

(h) участка VL, представленного в SEQ ID NO: 143 или 147 WO 2008/119567, и участка VH, представленного в SEQ ID NO: 141 или 145 WO 2008/119567;

(i) участка VL, представленного в SEQ ID NO: 161 или 165 WO 2008/119567, и участка VH, представленного в SEQ ID NO: 159 или 163 WO 2008/119567; и

(j) участка VL, представленного в SEQ ID NO: 179 или 183 WO 2008/119567, и участка VH, представленного в SEQ ID NO: 177 или 181 WO 2008/119567.

Согласно предпочтительному варианту конструкции антитела по данному изобретению связывающие домены и, в частности, второй связывающий домен (который связывается с CD3 (CD3) человека на поверхности Т-клетки) имеют следующий формат: пары VH-участков и VL-участков находятся в формате одноцепочечного антитела (scFv). Участки VH и VL расположены в порядке VH-VL или VL-VH. Предпочтительно VH-участок расположен на N-конце линкерной последовательности, а VL-участок расположен на C-конце линкерной последовательности.

Предпочтительный вариант описанной выше конструкции антитела по данному изобретению характеризуется вторым связывающим доменом, который связывается с CD3 (CD3) человека на поверхности Т-клетки, содержащим аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 или 187 WO 2008/119567.

Следовательно, в одном варианте осуществления изобретения конструкция антитела по изобретению содержит полипептид, выбранный из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 213, SEQ ID NO: 214, SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 438 и SEQ ID NO: 532. Такие конструкции антител содержат первый связывающий домен, который связывается с эпитопом ДПБЗ (DLL3), содержащимся в пределах участка, представленного в SEQ ID NO: 258.

В альтернативном варианте осуществления изобретения конструкция антитела по изобретению содержит полипептид, выбранный из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 170; SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 494, SEQ ID NO: 495, SEQ ID NO: 496, SEQ ID NO: 497, SEQ ID NO: 498, SEQ ID NO: 499, SEQ ID NO: 500, SEQ ID NO: 501, SEQ ID NO: 502, SEQ ID NO: 503, SEQ ID NO: 504, SEQ ID NO: 505, SEQ ID NO: 506, SEQ ID NO: 507, SEQ ID NO: 508, SEQ ID NO: 509, SEQ ID NO: 510, SEQ ID NO: 511, SEQ ID NO: 512, SEQ ID NO: 513, SEQ ID NO: 514, SEQ ID NO: 515, и SEQ ID NO: 516. Такие конструкции антител содержат первый связывающий домен, который связывается с эпитопом ДПБЗ (DLL3), содержащимся в пределах участка, представленного в SEQ ID NO: 259.

Кроме того, предполагаются модификации аминокислотных последовательностей конструкций антител, описанных в данном документе. Например, может быть желательным улучшить аффинность связывания и/или другие биологические свойства конструкции антитела. Варианты аминокислотных последовательностей конструкций антител получают путем введения соответствующих модификаций нуклеотидов в нуклеиновую кислоту конструкции антитела или путем синтеза пептидов. Все описанные ниже модификации аминокислотной последовательности должны приводить к созданию конструкции антитела, которое сохраняет желаемую биологическую активность (связывание с ДПБЗ (DLL3) и СДЗ (CD3)) немодифицированной родительской молекулы.

Термин "аминокислота" или "аминокислотный остаток" обычно относится к аминокислоте, соответствующей признанному в данной области техники определению, такому как аминокислота, выбранная из группы, состоящей из аланина (Ala или A); аргинина (Arg или R); аспарагина (Asn или N); аспарагиновой кислоты (Asp или D); цистеина (Cys или C); глутамина (Gln или Q); глутаминовой кислоты (Glu или E); глицина (Gly или G); гистидина (His или H); изолейцина (Ile или I); лейцина (Leu или L); лизина (Lys или K); метионина (Met или M); фенилаланина (Phe или F); пролина (Pro или P); серина (Ser или S); треонина (Thr или T); триптофана (Trp или W); тирозина (Tyr или Y) и валина (Val или V), хотя по желанию могут применяться модифицированные, синтетические или редкие аминокислоты. Как правило, аминокислоты могут быть сгруппированы как содержащие неполярную боковую цепь (например, Ala, Cys, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Val); отрицательно заряженную боковую цепь (например, Asp, Glu); положительно заряженную боковую цепь (например, Arg, His, Lys) или незаряженную полярную боковую цепь (например, Asn, Cys, Gln, Gly, His, Met, Phe, Ser, Thr, Trp и Tyr).

Модификации аминокислот включают в себя, например, делеции и/или инсерции и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях конструкций антител. Любая комбинация делеции, инсерции и замены производится для получения окончательной конструкции при условии, что конечная конструкция обладает желаемыми характеристиками. Кроме того, модификации аминокислот могут изменять посттрансляционные процессы для конструкций антител, такие как модификация количества или положения сайтов гликозилирования.

Например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислот могут быть вставлены или удалены в каждом из CDR (конечно, в зависимости от их длины), в то время как 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 25 аминокислот могут быть вставлены или удалены в каждом из FR. Предпочтительно инсерции аминокислотной последовательности включают в себя амино- и/или карбоксиконцевое слияние с длиной в диапазоне от 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 остатков до полипептидов, содержащих сто или большее количество остатков, а также инсерции одного или большего количества аминокислотных остатков внутри последовательности. Инсерционный вариант конструкции антитела по изобретению включает в себя слияние фермента с N-концом или C-концом конструкции антитела или слияние с полипептидом, который увеличивает период полувыведения конструкции антитела из сыворотки.

Сайты, представляющие наибольший интерес для заместительного мутагенеза, включают в себя CDR тяжелой и/или легкой цепи, в частности гипервариабельные участки, но также включены модификации FR тяжелой и/или легкой цепей. Замены предпочтительно представляют собой консервативные замены, как описано в данном изобретении. Предпочтительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот могут быть заменены в CDR, тогда как 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 25 аминокислот могут быть заменены в каркасных участках, KY (FR) в зависимости от длины CDR или FR. Например, если последовательность CDR содержит шесть аминокислот, то предполагается, что одна, две или три из этих аминокислот заменены. Аналогично, если последовательность CDR содержит 15 аминокислот, предполагается, что одна, две, три, четыре, пять или шесть из этих аминокислот заменены.

Подходящий способ идентификации определенных остатков или участков конструкций антител, которые являются предпочтительными сайтами для мутагенеза, называется "аланин-сканирующим мутагенезом", как описано Cunningham и Wells в Science, 244:1081-1085 (1989). Остаток или группу целевых остатков в конструкции антитела идентифицируют (например, заряженные остатки, такие как arg, asp, his, lys и glu) и заменяют нейтральной или отрицательно заряженной аминокислотой (наиболее предпочтительно аланином или полиаланином), чтобы повлиять на взаимодействие аминокислот с эпитопом.

Положения аминокислот, демонстрирующие функциональную чувствительность к заменам, затем уточняют путем введения дальнейших или других вариантов на или в сайтах замены. Таким образом, хотя сайт или участок для введения вариации аминокислотной последовательности определен заранее, природа мутации сама по себе не должна быть predetermined. Например, для анализа или оптимизации эффективности мутации в заданном сайте аланиновое сканирование или случайный мутагенез можно осуществлять в целевом кодоне или участке, а варианты конструкции экспрессируемых антител подвергают скринингу на предмет оптимальной комбинации желаемой активности. Способы осуществления мутаций с заменой в предварительно определенных участках ДНК с известной последовательностью хорошо известны, например мутагенез с праймером M13 и мутагенез ПЦР. Скрининг мутантов проводят с применением анализов антигенсвязывающей активности, таких как связывание с ДПБЗ (DLL3) или СДЗ (CD3).

Как правило, если аминокислоты заменены в одном или большем количестве или всех CDR тяже-

лой и/или легкой цепи, предпочтительно, чтобы полученная таким образом последовательность, "содержащая замены", была по меньшей мере на 60 или 65%, более предпочтительно на 70 или 75%, еще более предпочтительно на 80 или 85% и особенно предпочтительно на 90 или 95% идентична "оригинальной" последовательности CDR. Это означает, что от длины CDR зависит до какой степени он идентичен последовательности, "содержащей замены". Например, CDR, содержащий пять аминокислот, предпочтительно на 80% идентичен его последовательности, содержащей замены, что соответствует замене по меньшей мере одной аминокислоты. Соответственно, CDR конструкции антитела могут иметь разную степень идентичности с их последовательностями, содержащими замены, например для CDRL1 этот показатель может составлять 80%, тогда как для CDRL3 - 90%.

Предпочтительные замены являются консервативными заменами. Однако любая замена (включая неконсервативную замену или одну или большее количество "типичных замен", перечисленных в табл. 1) предусматривается при условии, что конструкция антитела сохраняет свою способность связываться с ДПБЗ (DLL3) посредством первого связывающего домена и с CD3 (CD3) или CD3 (CD3) ипсилон посредством второго связывающего домена, и/или его CDR идентичны последовательности, содержащей замены (по меньшей мере на 60 или 65%, более предпочтительно на 70 или 75%, еще более предпочтительно на 80 или 85% и особенно предпочтительно на 90 или 95% идентичны "оригинальной" CDR-последовательности).

Консервативные замены приведены в табл. 1 под заголовком "предпочтительные замены". Если такие замены приводят к модификации биологической активности, то могут быть введены более существенные модификации, обозначенные в табл. 1 как "типичные замены", или, как дополнительно описано ниже, применительно к классам аминокислот, продукты подвергают скринингу на предмет желаемой характеристики.

Таблица 1

Замены аминокислот		
Исходная	Типичные 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	Leu
Leu (L)	норлейцин, ile, val, met, ala	Ile
Lys (K)	arg, gln, asn	Arg
Met (M)	leu, phe, ile	Leu
Phe (F)	leu, val, ile, ala, tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	tyr, phe	Tyr
Tyr (Y)	trp, phe, thr, ser	phe
Val (V)	ile, leu, met, phe, ala	leu

Значительные модификации биологических свойств конструкции антитела по данному изобретению осуществляют путем выбора замен, которые существенно различаются по их влиянию на сохранение (а) структуры полипептидного скелета на участке замены, например, в виде листа или спиральной конформации, или (b) заряда или гидрофобности молекулы на целевом участке, или (c) объема боковой цепи. Встречающиеся в природе остатки делятся на группы, на основании общих свойств боковой цепи: (1) гидрофобные: норлейцин, met, ala, val, leu, ile; (2) нейтральные гидрофильные: cys, ser, thr; (3) кислые: asp, glu; (4) основные: asn, gln, his, lys, arg; (5) остатки, которые влияют на ориентацию цепи: gly, pro; и (6) ароматические: trp, tyr, phe.

Неконсервативные замены означают обмен члена одного из этих классов на другой класс. Любой цистеиновый остаток, не участвующий в поддержании надлежащей конформации конструкции антитела, может быть заменен, как правило, серином, для улучшения устойчивости молекулы к окислению и предотвращению aberrантного поперечного сшивания. Напротив, цистеиновая(ые) связь(и) может(гут) быть введена(ы) в антитело для улучшения его стабильности (в частности, если антитело является фрагментом

антитела, таким как фрагмент Fv).

Для аминокислотных последовательностей идентичность и/или сходство последовательностей определяют с применением стандартных методов, известных в данной области техники, включая, но не ограничиваясь этим, алгоритм идентификации локальной последовательности Smith and Waterman, 1981, Adv. Appl. Math. 2:482, алгоритм выравнивания для определения идентичности последовательностей Needleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48:443, метод поиска сходства Pearson and Lipman, 1988, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 85:2444, компьютеризованные реализации этих алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в пакете программ Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575, Science Drive, Madison, Wis.), программу последовательностей Best Fit, описанная Devereux et al., 1984, Nucl. Acid Res. 12:387-395, предпочтительно с настройками по умолчанию, или путем проверки. Предпочтительно, процент идентичности вычисляют при помощи FastDB на основе следующих параметров: штраф за рассогласование 1; штраф за внесение гэпа 1; штраф за размер гэпа 0,33 и штраф за воссоединение 30, "Current Methods in Sequence Comparison and Analysis", Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications, p. 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc.

Примером подходящего алгоритма является PILEUP. PILEUP осуществляет множественное выравнивание последовательностей из группы связанных последовательностей с применением прогрессивного попарного выравнивания. Он также может отображать дерево, иллюстрирующее отношения кластеризации, применяемые для осуществления выравнивания. В PILEUP применяется упрощение метода прогрессивного выравнивания Feng & Doolittle, 1987, J. Mol. Evol. 35:351-360; данный метод аналогичен методу, описанному Higgins and Sharp, 1989, CABIOS, 5:151-153. Подходящие параметры PILEUP, включая штраф за внесение гэпа по умолчанию 3,00, штраф за продление гэпа по умолчанию 0,10 и взвешенные концевые гэпы.

Другим примером подходящего алгоритма является алгоритм BLAST, описанный в Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410; Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402; и Karin et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873-5787. Особенно подходящей программой BLAST является программа WU-BLAST-2, полученная из Altschul et al., 1996, Methods in Enzymology, 266:460-480. В WU-BLAST-2 применяются несколько параметров поиска, большинство из которых имеют значения по умолчанию. Регулируемые параметры задаются со следующими значениями: длина перекрытия равна 1, доля перекрытия равна 0,125, пороговая длина слова (T) равна Π . Параметры HSP S и HSP S2 являются динамическими значениями и определяются самой программой в зависимости от состава конкретной последовательности и состава конкретной базы данных, в которой осуществляется поиск последовательности, представляющей интерес; однако значения могут быть скорректированы для повышения чувствительности.

Дополнительным полезным алгоритмом является гэпированный BLAST, описанный Altschul et al., 1993, Nucl. Acids Res. 25:3389-3402. В гэпированном BLAST применяются баллы замены BLOSUM-62; пороговый параметр T установлен на уровне 9; метод с двумя ударами для запуска удлинений без гэпа, начисляет гэпы в размере k со штрафом 10 плюс k; X_i установлен на уровне 16, а X_g установлен на уровне 40 для этапа поиска базы данных и на уровне 67 для выходной стадии алгоритмов. Выравнивание с гэпами запускается оценкой, соответствующей примерно 22 битам.

Как правило, гомология аминокислот, сходство или идентичность между отдельными вариантами CDR составляют по меньшей мере 60% для последовательностей, представленных в данном изобретении, и более типично с предпочтительно возрастающей гомологией или идентичностью по меньшей мере 65 или 70%, более предпочтительно по меньшей мере 75 или 80%, еще более предпочтительно по меньшей мере 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 и почти 100%. Аналогичным образом, "процент идентичности последовательности нуклеиновой кислоты" (%) в отношении последовательности нуклеиновой кислоты связывающихся белков, определенных в данном изобретении, определяется как процентное содержание нуклеотидных остатков в потенциальной последовательности, которые идентичны остаткам нуклеотидов в кодирующей последовательности конструкции антитела. В конкретном методе применяется модуль BLASTN WU-BLAST-2 с параметрами по умолчанию, с длиной перекрытия и долей перекрытия, установленными на уровне 1 и 0,125 соответственно.

Как правило, гомология, сходство или идентичность последовательностей нуклеиновой кислоты между нуклеотидными последовательностями, кодирующими отдельные варианты CDR, и нуклеотидными последовательностями, представленными в данном изобретении, составляет по меньшей мере 60% и более типично с предпочтительно возрастающей гомологией или идентичностью по меньшей мере 65, 70, 75, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99 и почти 100%. Таким образом, "вариант CDR" представляет собой вариант с указанной гомологией, сходством или идентичностью с родительским CDR по изобретению и разделяет биологическую функцию, включая, но не ограничиваясь этим, по меньшей мере 60, 65, 70, 75, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% специфичности и/или активности родительского CDR.

В одном варианте осуществления изобретения процент идентичности конструкций антител в соответствии с изобретением человеческой зародышевой линии больше или равен 70% или больше или равен 75%, более предпочтительно больше или равен 80% или больше или равен 85%, еще более предпочти-

тельно больше или равен 90% и наиболее предпочтительно больше или равен 91%, больше или равен 92%, больше или равен 93%, больше или равен 94%, больше или равен 95% или даже больше или равен 96%, см. Пример 7. Считается, что идентичность геным продуктам зародышевой линии человека в форме антител является важным признаком с точки зрения снижения риска того, что терапевтические белки будут вызывать иммунный ответ против лекарственного средства у пациента во время лечения. Hwang & Foote ("Immunogenicity of engineered antibodies"; Methods, 36, (2005), 3-10) продемонстрировали, что уменьшение количества не относящихся к человеку частей в конструкциях антител приводит к снижению риска индуцирования антител к лекарственным средствам у пациентов во время лечения. Путем сравнения исчерпывающего количества клинически оцениваемых лекарственных средств в форме антител и соответствующих данных иммуногенности, показана тенденция к снижению иммуногенности белка при гуманизации V-участков антител (в среднем 5,1% пациентов) по сравнению с антителами, несущими немодифицированные не относящиеся к человеку V-участки (в среднем 23,59% пациентов). Следовательно, более высокая степень идентичности последовательностям человека является желательной для белковых терапевтических средств V-участков в форме конструкций антител. Для указанной цели определения идентичности зародышевой линии V-участки VL могут быть выровнены с аминокислотными последовательностями сегментов V и сегментов J зародышевой линии человека (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>) при помощи программного обеспечения Vector NTI, и аминокислотная последовательность вычислена в процентах путем деления количества идентичных аминокислотных остатков на общее количество аминокислотных остатков VL. То же самое можно сделать для сегментов VH (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>), за исключением того, что VH CDR3 может быть исключен из-за его большого разнообразия и отсутствия партнеров по выравниванию из числа VH CDR3 зародышевой линии человека. Далее можно применить рекомбинантные методы для повышения степени идентичности последовательностей генам антител зародышевой линии человека.

В дополнительном варианте осуществления изобретения конструкции биспецифических антител по данному изобретению демонстрируют высокие выходы мономера в стандартных условиях исследования, например, в стандартном двухстадийном способе очистки. Предпочтительно выход мономера конструкций антител согласно изобретению больше или равен 0,25 мг/л супернатанта, более предпочтительно больше или равен 0,5 мг/л, еще более предпочтительно больше или равен 1 мг/л и наиболее предпочтительно больше или равен 3 мг/л супернатанта.

Аналогично может быть определен выход димерных изоформ конструкции антитела и, следовательно, процент мономера (т.е. мономер: (мономер плюс димер)). Продуктивность мономерных и димерных конструкций антител и вычисленный процент мономера могут быть, например, получены на стадии очистки эксклюзионной хроматографией, ЭХ (SEC) в супернатанте культуры, полученном в результате стандартизированного производства в лабораторном масштабе в роллерных флаконах. В одном варианте осуществления изобретения процент мономера конструкций антител составляет больше или равен 80%, более предпочтительно больше или равен 85%, еще более предпочтительно больше или равен 90% и наиболее предпочтительно больше или равен 95%.

В одном варианте осуществления изобретения предпочтительная стабильность конструкций антител в плазме (соотношение EC₅₀ с плазмой и EC₅₀ без плазмы) меньше или равна 5 или меньше или равна 4, более предпочтительно меньше или равна 3,5 или меньше или равна 3, еще более предпочтительно меньше или равна 2,5 или меньше или равна 2 и наиболее предпочтительно меньше или равна 1,5 или меньше или равна 1. Стабильность конструкции антитела в плазме можно протестировать путем инкубации конструкции в плазме человека при 37°C в течение 24 ч с последующим определением EC₅₀ в анализе цитотоксичности с высвобождением хрома-51. Эффекторные клетки в анализе цитотоксичности могут быть стимулированными обогащенными CD8-положительными Т-клетками человека. Клетки-мишени могут быть, например, клетками CHO, трансфектированными ДПБЗ (DLL3) человека. Соотношение эффекторных клеток и клеток-мишеней (Э:М) можно выбрать как 10:1. Пул плазмы человека, применяемый для этой цели, получают из крови здоровых доноров, собранной в шприцы, покрытые ЭДТА. Клеточные компоненты удаляют центрифугированием, верхнюю фракцию плазмы собирают и объединяют в пул. В качестве контроля конструкции антител разбавляют непосредственно перед анализом цитотоксичности средой RPMI-1640. Стабильность в плазме вычисляют как соотношение EC₅₀ (после инкубации в плазме) и EC₅₀ (контроль), см. Пример 11.

Кроме того, степень превращения конструкции антител по изобретению из мономера в димер предпочтительно является низкой. Превращение может быть измерено в разных условиях и проанализировано при помощи высокоэффективной эксклюзионной хроматографии, см. Пример 9. Например, инкубацию мономерных изоформ конструкций антител можно проводить в течение 7 дней при температуре 37°C и концентрациях, например, 100 или 250 мкг/мл в инкубаторе. В этих условиях конструкции антител по изобретению предпочтительно демонстрируют процентное содержание димера меньше или равное 5%, более предпочтительно меньше или равное 4%, еще более предпочтительно меньше или равное 3%, еще более предпочтительно меньше или равное 2,5%, еще более предпочтительно меньше или равное 2%, еще более предпочтительно меньше или равное 1,5% и наиболее предпочтительно меньше или равное 1% или меньше или равное 0,5% или даже 0%.

Кроме того, конструкциям биспецифических антител по данному изобретению предпочтительно свойственна очень низкая степень превращения в димер после ряда циклов замораживания/оттаивания. Например, содержание мономера конструкции антитела доводят до концентрации 250 мкг/мл, например, в буфере препарата для приготовления и подвергают трем циклам замораживания/оттаивания (замораживание при -80°C в течение 30 мин с последующим оттаиванием в течение 30 мин при комнатной температуре), а затем анализируют высокоэффективной ЭХ (SEC) для определения процента изначально мономерной конструкции антитела, которая была превращена в димерную конструкцию антитела.

Предпочтительно процентное содержание димерных конструкций биспецифических антител составляет менее или равно 5%, более предпочтительно менее или равно 4%, еще более предпочтительно менее или равно 3%, еще более предпочтительно менее или равно 2,5%, еще более предпочтительно менее или равно 2%, еще более предпочтительно менее или равно 1,5% и наиболее предпочтительно менее или равно 1% или даже менее или равно 0,5%, например, после трех циклов замораживания/оттаивания.

Конструкции биспецифических антител по данному изобретению предпочтительно демонстрируют благоприятную термостабильность с температурой агрегации больше или равной 45°C или больше или равной 50°C , более предпочтительно больше или равной 52°C или больше или равной 54°C , еще более предпочтительно больше или равной 56°C или больше или равной 57°C и наиболее предпочтительно больше или равной 58°C или больше или равной 59°C . Показатель термостабильности может быть определен в терминах температуры агрегации антител следующим образом: раствор антитела с концентрацией 250 мкг/мл переносят в одноразовую кювету и помещают в устройство динамического рассеяния света, ДРС (DLS). Образец нагревают от 40 до 70°C со скоростью нагрева $0,5^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ с постоянным определением измеряемого радиуса. Для вычисления температуры агрегации антитела применяют увеличение радиуса, указывающего на плавление белка и агрегацию, см. Пример 10.

В качестве альтернативы кривые температуры плавления могут быть определены при помощи дифференциальной сканирующей калориметрии, ДСК (DSC), чтобы определить, присущую белку биофизическую стабильность для конструкций антител. Эти эксперименты выполняют с применением устройства VP-DSC MicroCal LLC (Нортгемптон, штат Массачусетс, США). Поглощение энергии образцом, содержащим конструкцию антитела, регистрируют при температуре от 20 до 90°C по сравнению с образцом, содержащим только буфер препарата. Конечную концентрацию конструкций антител доводят до 250 мкг/мл, например, в буфере анализа ЭХ (SEC). Для регистрации соответствующей кривой плавления общую температуру образца повышают ступенчато. При каждой температуре T регистрируется поглощение энергии образцом и буферным раствором препарата. Зависимость разницы в поглощении энергии C_p (кКал/моль/ $^{\circ}\text{C}$) образцом минус эталонная величина от соответствующей температуры наносят на график. Температуру плавления определяют как температуру первого максимума поглощения энергии.

Кроме того, предполагается, что конструкции биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) по изобретению не реагируют перекрестно с (т.е. по существу, не связываются с) паралогами ДПБЗ (DLL3) человека DLL1 и/или DLL4. Кроме того, предполагается, что конструкции биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) по изобретению не реагируют перекрестно (т.е. по существу, не связываются с) с паралогами ДПБЗ (DLL3) макака/яванца DLL1 и/или DLL4, см. Пример 6.

Кроме того, предполагается, что мутность (измеренная по данным оптической плотности на длине волны 340 нм, после концентрирования очищенной мономерной конструкции антитела до 2,5 мг/мл и инкубации на протяжении ночи) конструкции биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) по изобретению будет составлять меньше или равно 0,2, предпочтительно меньше или равно 0,15, более предпочтительно меньше или равно 0,12, еще более предпочтительно меньше или равно 0,1 и наиболее предпочтительно меньше или равно 0,08, см. Пример 12.

Дополнительно предполагается, что конструкции биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) по изобретению не будут интернализироваться или подвергаться значительной интернализации клеткой-мишенью. Скорость интернализации может быть проанализирована, например, как описано в Примере 16. Предпочтительно скорость интернализации (например, определенная по уменьшению цитотоксичности) меньше или равна 20% после 2-часовой (пред)инкубации конструкции антитела с клеткой-мишенью, более предпочтительно меньше или равна 15%, еще более предпочтительно меньше или равна 10% и наиболее предпочтительно меньше или равна 5%.

Кроме того, предполагается, что выброшенный или растворенный ДПБЗ (DLL3) существенно не снижает эффективности или биологической активности конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) по изобретению. Это можно измерить, например, в анализе цитотоксичности, в котором растворимый ДПБЗ (DLL3) добавляют с повышающейся концентрацией в анализе, например 0-0,3-0,7-1-3-7-12 нМ. Значение EC_{50} тестируемой конструкции антитела не должно значительно повышаться в присутствии растворимого ДПБЗ (DLL3), см. Пример 17.

В дополнительном варианте осуществления изобретения конструкция антитела в соответствии с изобретением является стабильной при кислых значениях pH. Чем более толерантно конструкция антитела ведет себя при нефизиологических значениях pH, таких как pH 5,5 (значение pH, которое требуется для запуска, например, катионообменной хроматографии), тем выше степень выделения конструкции

антитела, элюируемой из ионообменной колонки, относительно общего количества загруженного белка. Выход конструкции антитела из ионообменной (например, катионообменной) колонки при pH 5,5 предпочтительно составляет больше или равен 30%, более предпочтительно больше или равен 40%, более предпочтительно больше или равен 50%, еще более предпочтительно больше или равен 60%, еще более предпочтительно больше или равен 70% еще более предпочтительно больше или равен 80%, еще более предпочтительно больше или равен 90%, еще более предпочтительно больше или равен 95% и наиболее предпочтительно больше или равен 99%, см. Пример 13.

Кроме того, предполагается, что конструкции биспецифического антитела по данному изобретению проявляют терапевтическую эффективность или противоопухолевую активность. Это можно оценить, например, в ходе исследования, описанного в дополнительном примере модели ксенотрансплантации опухоли человека в поздней стадии:

В 1 день исследования 5×10^6 клеток ДПБЗ (DLL3)-положительной клеточной линии рака человека (например, SHP-77) подкожно вводят в дорсальную часть правого бока спины самок мышей NOD/SCID. Когда средний объем опухоли достигает около 100 мм^3 , разведенные *in vitro* CD3 (CD3)-положительные Т-клетки человека трансплантируют мышам путем инъекции примерно 2×10^7 клеток в брюшную полость животных. Мыши контрольной группы основы 1 не получают эффекторных клеток и используются как контроль без трансплантации для сравнения с контрольной группой основы 2 (получающей эффекторные клетки) для контроля влияния только Т-клеток на рост опухоли. Лечение антител начинают, когда средний объем опухоли достигает около 200 мм^3 . Средний размер опухоли в каждой группе лечения в день начала лечения не должен быть статистически отличным от любой другой группы (дисперсионный анализ). Мышей лечат $0,5 \text{ мг/кг/день}$ конструкции биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3) путем внутривенной инъекции болюса в течение примерно 15-20 дней. Опухоли измеряют штангенциркулем во время исследования и прогресс оценивают путем межгруппового сравнения объемов опухоли, ОО (TV). Подавление роста опухоли Т/С [%] определяют путем вычисления TV в виде $\text{Т/С \%} = 100 \times (\text{медиана TV анализируемой группы}) / (\text{медиана TV контрольной группы } 2)$.

Специалисту в данной области техники известно, каким образом модифицировать или адаптировать некоторые параметры этого исследования, такие как количество инъекционно введенных опухолевых клеток, место инъекции, количество трансплантированных Т-клеток человека, количество биспецифических конструкций антител для введения, и сроки, при этом достигая значимого и воспроизводимого результата. Предпочтительно подавление роста опухоли Т/С [%] меньше или равно 70 или меньше или равно 60, более предпочтительно меньше или равно 50 или меньше или равно 40, еще более предпочтительно меньше или равно 30 или меньше или равно 20 и наиболее предпочтительно меньше или равно 10 или меньше или равно 5 или даже меньше или равно 2,5.

Дополнительно, изобретение относится к молекуле полинуклеотида/нуклеиновой кислоты, кодирующей конструкцию антитела по изобретению.

Полинуклеотид представляет собой биополимер, состоящий из 13 или большего количества нуклеотидных мономеров, ковалентно связанных в нить. ДНК (такая как кДНК) и РНК (такая как мРНК) представляют собой примеры полинуклеотидов с разной биологической функцией. Нуклеотиды являются органическими молекулами, которые служат мономерами или субъединицами молекул нуклеиновых кислот, таких как ДНК или РНК. Молекула нуклеиновой кислоты или полинуклеотида может быть двухнитевой и однонитевой, линейной и круговой. Она предпочтительно состоит из вектора, который предпочтительно содержится в клетке-хозяине. Указанная клетка-хозяин представляет собой, например, клетку после трансформации или трансфекции вектором или полинуклеотидом по изобретению, способным экспрессировать конструкцию антитела. Для этой цели молекула полинуклеотида или нуклеиновой кислоты функционально связана с контрольными последовательностями.

Генетический код представляет собой набор правил, при помощи которых информация, закодированная в пределах генетического материала (нуклеиновых кислот) транслируется в белки. Биологическое декодирование в живых клетках осуществляется рибосомой, которая связывает аминокислоты в порядке, определенном мРНК, с применением молекул тРНК для переноса аминокислот и считывания трех нуклеотидов мРНК за один раз. Код определяет, каким образом последовательности этих нуклеотидных триплетов, называемых кодонами, определяют, какая аминокислота будет добавляться во время синтеза белка. За некоторыми исключениями, трехнуклеотидный кодон в последовательности нуклеиновой кислоты определяет одну аминокислоту. Поскольку подавляющее большинство генов кодируется в точности одинаковым кодом, этот конкретный код часто называют каноническим или стандартным генетическим кодом. Хотя генетический код определяет последовательность белка для данного кодирующего участка, другие геномные участки могут влиять на то, когда и где вырабатываются эти белки.

Кроме того, в изобретении предложен вектор, содержащий молекулу полинуклеотида/нуклеиновой кислоты по изобретению.

Вектор представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, применяемую в качестве носителя для переноса (чужеродного) генетического материала в клетку. Термин "вектор" включает, но не ограничиваясь этим, плазмиды, вирусы, космиды и искусственные хромосомы. В общем, сконструированные век-

торы содержат источник репликации, сайт множественного клонирования и селекционный маркер. Сам вектор, как правило, представляет собой нуклеотидную последовательность, обычно последовательность ДНК, которая содержит инсерцию (трансген) и последовательность большего размера, которая служит в качестве "скелета" вектора. Современные векторы могут обладать дополнительными признаками, помимо трансгенной инсерции и скелета: промотор, генетический маркер, устойчивость к антибиотикам, репортерный ген, нацеливающая последовательность, маркер очистки белка. Векторы, называемые векторами экспрессии (конструкции экспрессии), специально предназначены для экспрессии трансгена в клетке-мишени и, как правило, содержат контрольные последовательности.

Термин "контрольные последовательности" относится к последовательностям ДНК, необходимым для экспрессии функционально связанной кодирующей последовательности в конкретном организме-хозяине. Контрольные последовательности, которые подходят для прокариотов, например, включают в себя промотор, необязательно последовательность оператора и сайт связывания с рибосомой. Известно, что эукариотические клетки используют промоторы, сигналы полиаденилирования и энхансеры.

Нуклеиновая кислота является "функционально связанной", если она размещена в функциональной связи с другой последовательностью нуклеиновой кислоты. Например, ДНК прекурсора или секреторного лидера функционально связана с ДНК полипептида, если она экспрессируется в виде белка-прекурсора, который принимает участие в секреции полипептида; промотор или энхансер функционально связан с кодирующей последовательностью, если он влияет на транскрипцию последовательности; или сайт связывания с рибосомой функционально связан с кодирующей последовательностью, если он расположен таким образом, чтобы упростить трансляцию. Как правило, "функционально связанный" означает, что связанные с ним последовательности ДНК являются непрерывными, а в случае секреторного лидера являются смежными и находятся в рамке считывания. Однако энхансеры не обязательно должны быть смежными. Связывание осуществляется путем лигирования в подходящих рестрикционных сайтах. Если такие сайты отсутствуют, то применяются синтетические олигонуклеотидные адаптеры или линкеры в соответствии с обычной практикой.

"Трансфекция" представляет собой процесс преднамеренного введения молекул нуклеиновой кислоты или полинуклеотидов (включая векторы) в клетки-мишени. Этот термин в основном используется для невирусных методов в эукариотических клетках. Трансдукция часто используется для описания опосредованного вирусом переноса молекул нуклеиновой кислоты или полинуклеотидов. Трансфекция животных клеток обычно включает в себя кратковременное открытие пор или "отверстий" в клеточной мембране, что позволяет захват материала. Трансфекцию можно осуществлять с применением фосфата кальция, путем электропорации, путем сдавливания клеток или путем смешивания катионного липида с материалом для получения липосом, которые сливаются с клеточной мембраной и переносят свой "груз" внутрь.

Термин "трансформация" используется для описания невирусного переноса молекул нуклеиновой кислоты или полинуклеотидов (включая векторы) в бактерии, а также в клетки, не являющиеся животными эукариотическими клетками, в том числе в растительные клетки. Таким образом, трансформация представляет собой генетическую модификацию бактериальной или неживотной эукариотической клетки, являющуюся результатом прямого поглощения из окружающей среды сквозь клеточную(ые) мембрану(ы) и последующей инкорпорации экзогенного генетического материала (молекул нуклеиновой кислоты). Трансформация может быть осуществлена при помощи искусственных средств. Чтобы произошла трансформация, клетки или бактерии должны находиться в состоянии компетентности, которое может возникать как ограниченный по времени ответ на условия окружающей среды, такие как голодание и плотность клеток.

Кроме того, в изобретении предложена клетка-хозяин, трансформированная или трансфектированная молекулой полинуклеотида/нуклеиновой кислоты или вектором по изобретению.

Как используется в данном документе, термины "клетка-хозяин" или "клетка-реципиент" предназначены для включения любой отдельной клетки или клеточной культуры, которые могут быть или стать реципиентами векторов, экзогенных молекул нуклеиновой кислоты и полинуклеотидов, кодирующих конструкцию антитела по данному изобретению; и/или реципиентами самой конструкции антитела. Введение соответствующего материала в клетку осуществляют посредством трансформации, трансфекции и т.п. Кроме того, термин "клетка-хозяин" включает потомства или потенциальное потомство одной клетки. Поскольку определенные модификации могут произойти в последующих поколениях из-за естественной, случайной или преднамеренной мутации или из-за воздействия окружающей среды, такое потомство фактически не может быть полностью идентичным (с точки зрения морфологии или геномного или полного комплемента ДНК) родительской клетке, но все еще включено в определение термина, используемого в данном документе. Подходящие клетки-хозяева включают в себя прокариотические или эукариотические клетки, а также включают в себя, но не ограничиваясь этим, бактерии, дрожжевые клетки, клетки грибов, растительные клетки и животные клетки, такие как клетки насекомых и клетки млекопитающих, например, мыши, крысы, макака или человека.

Конструкция антитела по изобретению может вырабатываться бактериями. После экспрессии конструкцию антитела по изобретению выделяют из клеточной пасты *E. coli* в растворимой фракции, и она

может быть очищена посредством, например, аффинной и/или эксклюзионной хроматографии. Окончательная очистка может быть проведена аналогично способу очистки антитела, экспрессируемого, например, в клетках СНО.

В дополнение к прокариотам эукариотические микробы, такие как нитчатые грибы или дрожжи, являются подходящими хозяевами клонирования или экспрессии конструкции антитела по изобретению. *Saccharomyces cerevisiae* или обычные пекарские дрожжи наиболее часто используются из числа микроорганизмов-хозяев низших эукариотов. Тем не менее ряд других родов, видов и штаммов общедоступны и пригодны согласно данному изобретению, такие как *Schizosaccharomyces pombe*, хозяева *Kluveromyces*, такие как *K. lactis*, *K. fragilis* (ATCC 12424), *K. bulgaricus* (ATCC 16045), *K. wickerhamii* (ATCC 24178), *K. waltii* (ATCC 56500), *K. drosophilum* (ATCC 36906), *K. thermotolerans* и *K. marxianus*; *Yarrowia* (EP 402226); *Pichia pastoris* (EP 183070); *Candida*; *Trichoderma reesei* (EP 244 234); *Neurospora crassa*; *Schwanniomyces*, такие как *Schwanniomyces occidentalis*; и нитчатые грибы, такие как *Neurospora*, *Penicillium*, *Tolyrocladium*, и хозяева *Aspergillus*, такие как *A. nidulans* и *A. niger*.

Подходящие клетки-хозяева для экспрессии конструкции гликозилированного антитела по изобретению получают из многоклеточных организмов. Примеры клеток беспозвоночных включают в себя клетки растений и насекомых. Были идентифицированы многочисленные бакуловирусные штаммы и варианты и соответствующие разрешающие клетки-хозяева насекомых из организма хозяев, таких как *Spodoptera frugiperda* (гусеница), *Aedes aegypti* (комары), *Aedes albopictus* (москиты), *Drosophila melanogaster* (плодовая мушка) и *Bombus mori*. Доступны различные вирусные штаммы для трансфекции, например вариант L-1 вируса нуклеополиэдроза, ВНП (NPV) *Autographa californica* и штамм Bm-5 ВНП (NPV) *Bombus mori*, притом что такие вирусы могут применяться в качестве вируса в соответствии с настоящим изобретением, в частности для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*.

Дополнительно в качестве хозяев могут использоваться культуры растительных клеток хлопка, кукурузы, картофеля, сои, петунии, томатов, арабидопсиса и табака. Специалистам в данной области техники известны векторы клонирования и экспрессии, подходящие для выработки белков в культуре растительных клеток. См., например, Hiatt et al., *Nature* (1989), 342:76-78, Owen et al. (1992), *Bio/Technology*, 10:790-794, Artsenko et al. (1995), *The Plant. J.* 8:745-750 и Fecker et al. (1996), *Plant. Mol. Biol.* 32:979-986.

Однако наибольший интерес проявляется к клеткам позвоночных, а разведение клеток позвоночных в культуре (тканевая культура) стало шаблонной процедурой. Примерами подходящих линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия клеток почки обезьяны CV1, трансформированная SV40 (COS-7, Американская коллекция типовых культур, АКТК, ATCC CRL 1651); эмбриональная линия почки человека (293 или клетки 293, субклонированные для роста в суспензионной культуре, Graham et al., *J. Gen Virol.*, 36:59 (1977)); клетки почки детеныша хомяка, ПДХ (ВНК, ATCC CCL 10); клетки яичника китайского хомяка/-дигидрофолатредуктаза, ДГФР (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 почки обезьяны (CV1 ATCC CCL 70); клетки почки африканской зеленой мартовки (VERO-76, ATCC CRL1587); клетки карциномы шейки матки человека (HELA, ATCC CCL 2); клетки почки собаки (MDCK, ATCC CCL 34); клетки печени крысы линии Buffalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442); клетки легкого человека (W138, ATCC CCL 75); клетки печени человека (Hep G2, 1413 8065); опухоль молочной железы мыши (MMT 060562, ATCC CCL5 1); клетки TRI (Mather et al., *Annals N.Y Acad. Sci.* (1982), 383:44-68); клетки MRC 5; клетки FS4 и линия гепатомы человека (Hep G2).

В дополнительном варианте осуществления изобретение относится к способу получения конструкции антитела по изобретению, причем указанный способ включает в себя культивирование клетки-хозяина по изобретению в условиях, позволяющих экспрессию конструкции антитела по изобретению и выделение продуцированной конструкции антитела из культуры.

Как используется в данном документе, термин "культивирование" относится к содержанию, дифференцировке, росту, пролиферации и/или разведению клеток *in vitro* в среде в подходящих условиях. Термин "экспрессия" включает в себя любую стадию, принимающую участие в выработке конструкции антитела по изобретению, включая, но не ограничиваясь этим, транскрипцию, посттранскрипционную модификацию, трансляцию, посттрансляционную модификацию и секрецию.

При применении рекомбинантных методов конструкция антитела может вырабатываться внутриклеточно, в периплазматическом пространстве, или непосредственно секретироваться в среду. Если конструкцию антитела получают внутри клетки, то на первой стадии удаляются дебрис частиц, клетки-хозяева или лизированные фрагменты, например, путем центрифугирования или ультрафильтрации. Carter et al., *Bio/Technology*, 10:163-167 (1992) описывают методику выделения антител, которые секретировуются в периплазматическое пространство *E. coli*.

Вкратце, клеточную пасту размораживают в присутствии ацетата натрия (pH 3,5), ЭДТА и фенилметилсульфонилфторида, ФМСФ (PMSF) в течение примерно 30 мин. Клеточный дебрис можно удалить центрифугированием. Если антитело секретировуется в среду, то супернатанты из таких систем экспрессии обычно вначале концентрируют с применением коммерчески доступного фильтра для концентрации белка, например, ультрафильтрационной установки Amicon или Millipore Pellicon. Ингибитор протеазы,

такой как ФМСФ (PMSF), может быть включен на любой из вышеперечисленных стадий для ингибирования протеолиза, а антибиотики могут быть включены для предотвращения роста случайных загрязнителей.

Конструкция антитела по изобретению, полученная из клеток-хозяев, может быть выделена или очищена с применением, например, гидроксиапатитовой хроматографии, гель-электрофореза, диализа и аффинной хроматографии. Кроме того, доступны другие способы очистки белка, такие как фракционирование на ионообменной колонке, осаждение этанолом, обращенно-фазовая ВЭЖХ, хроматография на кремния диоксиде, хроматография на гепарине SEPHAROSE™, хроматография на анионо- или катионообменной смоле (такой как колонка с полиаспарагиновой кислотой), хроматофокусировка, ДНС-ПААГ (SDS-PAGE) и осаждение сульфатом аммония, в зависимости от антитела, подлежащего выделению. Если конструкция антитела по изобретению содержит домен СН3, то для очистки подходит смола Bakerbond ABX (JT Baker, Филлипсберг, штат Нью-Джерси).

Предпочтительной технологией очистки является аффинная хроматография. Матрица, к которой присоединен аффинный лиганд, чаще всего является агарозной, но доступны другие матрицы. Механически стабильные матрицы, такие как стекло с заданным размером пор или поли(стиролдивинил)бензол, позволяют более высокие скорости потока и более короткое время обработки, чем те, которые могут быть достигнуты при помощи агарозы.

Кроме того, в изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая конструкцию антитела по изобретению или конструкцию антитела, полученную в соответствии со способом по изобретению.

Как используется в данном изобретении, термин "фармацевтическая композиция" относится к композиции, которая подходит для введения пациенту, предпочтительно человеку. Особенно предпочтительная фармацевтическая композиция по данному изобретению содержит одну или большее количество конструкций антитела по изобретению, предпочтительно в терапевтически эффективном количестве. Предпочтительно фармацевтическая композиция дополнительно содержит подходящие препараты одного или большего количества (фармацевтически эффективных) носителей, стабилизаторов, вспомогательных веществ, разбавителей, солюбилизаторов, поверхностно-активных веществ, эмульгаторов, консервантов и/или адьювантов. Приемлемые компоненты композиции предпочтительно являются нетоксичными для реципиентов в применяемых дозах и концентрациях. Фармацевтические композиции по изобретению включают в себя, но не ограничиваясь этим, жидкие, замороженные и лиофилизированные композиции.

Композиции по изобретению могут содержать фармацевтически приемлемый носитель. В общем, как используется в данном документе, термин "фармацевтически приемлемый носитель" означает любой и все водные и неводные растворы, стерильные растворы, растворители, буферы, например, фосфатно-солевой буфер, ФСБ (PBS), воду, суспензии, эмульсии, такие как эмульсии масло/вода, различные типы увлажняющих агентов, липосомы, дисперсионные среды и покрытия, которые совместимы с фармацевтическим введением, в частности, с парентеральным введением. Применение таких сред и агентов в фармацевтических композициях хорошо известно в данной области техники, и композиции, содержащие такие носители, могут быть составлены при помощи хорошо известных общепринятых способов.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предложены фармацевтические композиции, содержащие конструкцию антитела по изобретению, и дополнительно одно или большее количество вспомогательных веществ, таких как те, которые иллюстративно описаны в этом разделе и в любом другом месте данного документа.

В этом отношении вспомогательные вещества могут применяться в изобретении для самых разных целей, таких как регулирование физических, химических или биологических свойств композиций, таких как регулирование вязкости, и/или в способах по изобретению для повышения эффективности и/или стабилизации таких препаратов и способов против деградации и ухудшения качества, связанных, например, со стрессовыми воздействиями, возникающими при изготовлении, транспортировке, хранении, предварительном приготовлении, введении и после этого.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция может содержать материалы препарата для модификации, поддержания или сохранения, например, pH, осмотического давления, вязкости, прозрачности, цвета, изотоничности, запаха, стерильности, стабильности, скорости растворения или высвобождения, адсорбции или проникновения композиции (см. REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18th Edition, (A.R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company). В таких вариантах осуществления изобретения подходящие материалы препарата могут включать в себя, но не ограничиваясь этим:

аминокислоты, такие как глицин, аланин, глутамин, аспарагин, треонин, пролин, 2-фенилаланин, включая заряженные аминокислоты, предпочтительно лизин, ацетат лизина, аргинин, глутамат и/или гистидин;

противомикробные средства, такие как антибактериальные и противогрибковые средства;

антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, метионин, сульфит натрия или гидросульфит натрия;

буферные агенты, буферные системы и буферные агенты, которые применяются для поддержания физиологического значения рН композиции или несколько более низкого значения рН, как правило, в диапазоне рН от около 5 до около 8 или 9; примерами буферных агентов являются борат, бикарбонат, трис-НСI, цитраты, фосфаты или другие органические кислоты, сукцинат, фосфат, гистидин и ацетат; например Трис-буфер с рН около 7,0-8,5, или ацетатный буфер с рН около 4,0-5,5;

неводные растворители, такие как пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло, и пригодные для инъекций органические сложные эфиры, такие как этилолеат;

водные носители, включая воду, спиртовые/водные растворы, эмульсии или суспензии, включая солевые и буферные среды;

биоразлагаемые полимеры, такие как сложные полиэфиры;

наполнители, такие как маннит или глицин;

хелатирующие агенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА);

изотонические и абсорбирующие агенты;

комплексообразующие агенты, такие как кофеин, поливинилпирролидон, бета-циклодекстрин или гидроксипропил-бета-циклодекстрин);

наполнители;

моносахариды;

дисахариды и

другие углеводы (такие как глюкоза, манноза или декстрины);

углеводы могут быть невосстанавливающими сахарами, предпочтительно трегалозой, сахарозой, октасульфатом, сорбитом или ксилитом;

(низкомолекулярные) белки, полипептиды или белковые носители, такие как человеческий или бычий сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины, предпочтительно человеческого происхождения;

красители и ароматизаторы;

серосодержащие восстановители, такие как глутатион, тиоктовая кислота, тиогликолят натрия, тиоглицерин, [альфа]-монотиоглицерин и тиосульфат натрия;

разбавители;

эмульгаторы;

гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон;

солеобразующие противоионы, такие как натрий;

консерванты, такие как противомикробные средства,

антиоксиданты, хелатирующие агенты, инертные газы и т.п.;

примерами являются бензалкония хлорид, бензойная кислота, салициловая кислота, тимеросал, фенэтиловый спирт, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, сорбиновая кислота или пероксид водорода;

комплексы металлов, такие как Zn-белковые комплексы;

растворители и соразтворители (такие как глицерин, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль);

сахара и сахарные спирты, такие как трегалоза, сахароза, октасульфат, маннит, сорбит или ксилит, стахиоза, манноза, сорбоза, ксилитоза, рибоза, миоинозитоза, галактоза, лактит, рибит, миоинозит, галактит, глицерин, циклитолы (например, инозит), полиэтиленгликоль; и многоатомные сахарные спирты;

суспендирующие агенты;

поверхностно-активные вещества или увлажняющие агенты, такие как плуроники, ПЭГ, сложные эфиры сорбитана, полисорбаты, такие как полисорбат 20, полисорбат, тритон, трометамин, лецитин, холестерин, тилоксапал; поверхностно-активные вещества могут быть детергентами, предпочтительно с молекулярной массой более чем 1,2 кДа и/или полиэфиром, предпочтительно с молекулярной массой более чем 3 кДа; неограничивающие примеры предпочтительных детергентов представляют собой Твин 20, Твин 40, Твин 60, Твин 80 и Твин 85; неограничивающими примерами предпочтительных полиэфиров являются ПЭГ 3000, ПЭГ 3350, ПЭГ 4000 и ПЭГ 5000;

агенты, улучшающие стабильность, такие как сахароза или сорбит;

агенты, повышающие осмотическое давление, такие как галогениды щелочных металлов, предпочтительно натрия или калия хлорид, маннит, сорбит;

основы для парентерального введения, включая раствор хлорида натрия, раствор Рингера с глюкозой, раствор глюкозы и хлорида натрия, растворы Рингера с лактатом или нелетучие масла;

основы для внутривенного введения, в том числе средства для восполнения жидкости и питательных веществ, средства для восполнения электролитов (например, на основе раствора Рингера с глюкозой).

Для специалистов в данной области техники будет очевидно, что различные компоненты фармацевтической композиции (например, перечисленные выше) могут оказывать различное влияние, например аминокислота может действовать как буфер, стабилизатор и/или антиоксидант; маннит может действовать как наполнитель и/или агент, повышающий осмотическое давление; хлорид натрия может действовать как основа для введения и/или агент, повышающий осмотическое давление; и т.п.

Предполагается, что композиция по изобретению может содержать, в дополнение к полипептиду по изобретению, определенному в данном документе, другие биологически активные агенты в зависимости от предполагаемого применения композиции. Такими агентами могут быть лекарственные средства, воздействующие на пищеварительную систему, лекарственные средства, действующие как цитостатические средства, лекарственные средства, предотвращающие гиперурикемию, лекарственные средства, подавляющие иммунные реакции (например, кортикостероиды), лекарственные средства, модулирующие воспалительный ответ, лекарственные средства, воздействующие на систему кровообращения и/или такие агенты, как известные в данной области техники цитокины. Кроме того, предполагается, что конструкция антитела по данному изобретению пригодна для комбинированной терапии, т.е. в сочетании с другим противораковым лекарственным средством.

В некоторых вариантах осуществления изобретения оптимальная фармацевтическая композиция будет определяться специалистом в данной области техники в зависимости, например, от предполагаемого способа введения, формата доставки и желаемой дозировки. См., например, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, выше. В некоторых вариантах осуществления изобретения такие композиции могут влиять на физическое состояние, стабильность, скорость высвобождения *in vivo* и скорость клиренса *in vivo* конструкции антитела по изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения первичная основа или носитель в фармацевтической композиции может быть водным или неводным по своей природе. Например, подходящей основой или носителем может быть вода для инъекций, физиологический раствор хлорида натрия или искусственная спинномозговая жидкость, возможно, с добавлением других материалов, обычно применяемых в композициях для парентерального введения. Нейтральный буферный физиологический раствор или физиологический раствор, смешанный с сывороточным альбумином, представляют собой еще более типичные основы. В некоторых вариантах осуществления изобретения конструкция антитела по изобретению может быть приготовлена для хранения путем смешивания выбранной композиции с требуемой степенью чистоты с необязательными вспомогательными веществами (REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, выше) в форме лиофилизированной таблетки или водного раствора. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления изобретения конструкция антитела по изобретению может быть составлена в виде лиофилизата с применением подходящих вспомогательных веществ, таких как сахароза.

Если предполагается парентеральное введение, то терапевтические композиции для применения в данном изобретении могут быть представлены в виде апиrogenного, подходящего для парентерального введения водного раствора, содержащего желаемую конструкцию антитела по изобретению в фармацевтически приемлемом носителе. Особенно подходящим средством для парентеральной инъекции является стерильная дистиллированная вода, в которой конструкция антитела по изобретению составлена в виде стерильного изотонического раствора, с надлежащими консервантами. В некоторых вариантах осуществления изобретения препарат может включать в себя препарат желаемой молекулы с агентом, таким как подходящие для инъекций микросферы, биоразлагаемые частицы, полимерные соединения (такие как полимолочная кислота или полигликолевая кислота), шарики или липосомы, способные обеспечивать контролируемое или устойчивое высвобождение продукта, который может быть доставлен посредством инъекции депо. В некоторых вариантах осуществления изобретения может быть дополнительно применена гиалуроновая кислота, которая влияет на продолжительность нахождения в кровотоке. В некоторых вариантах осуществления изобретения для введения желаемой конструкции антитела могут применяться имплантируемые устройства для доставки лекарственного средства.

Для специалистов в данной области техники будут очевидны дополнительные фармацевтические композиции, в том числе препараты, содержащие конструкцию антитела по изобретению в препаратах с пролонгированной или контролируемой доставкой/высвобождением. Кроме того, специалистам в данной области техники известны способы разработки множества других средств пролонгированной или контролируемой доставки, таких как липосомные носители, биоразлагаемые микрочастицы или пористые шарики и инъекции депо, см., например, международную патентную заявку № PCT/US93/00829, в которой описано контролируемое высвобождение пористых полимерных микрочастиц для доставки фармацевтических композиций. Препараты с пролонгированным высвобождением могут включать в себя полупроницаемые полимерные матрицы в форме профилированных изделий, например пленок или микрокапсул. Матрицы с пролонгированным высвобождением могут включать в себя полиэфиры, гидрогели, полилактоиды (как описано в патенте США № 3773919 и публикации европейской патентной заявки № EP 058481), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма-этил-L-глутамата (Sidman et al., 1983, *Biopolymers*, 2:547-556), поли(2-гидроксиэтилметакрилат) (Langer et al., 1981, *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277 и Langer, 1982, *Chem. Tech.* 12:98-105), этиленвинилацетат (Langer et al., 1981, выше) или поли-D(-)-3-гидроксимасляную кислоту (публикация европейской патентной заявки № EP 133988). Кроме того, композиции с пролонгированным высвобождением могут включать в себя липосомы, которые могут быть получены любым из нескольких способов, известных в данной области техники, см., например, Eppstein et al., 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82:3688-3692; публикации европейских патентных заявок № EP 036676; EP 088046 и EP 143949.

Дополнительно, конструкцию антитела можно захватывать в микрокапсулы, полученные, напри-

мер, методами коацервации или путем межфазной полимеризации (например, гидроксиметилцеллюлозные или желатиновые микрокапсулы и поли(метилметакрилатные) микрокапсулы соответственно), в коллоидных системах доставки лекарственных средств (например, липосомы, альбуминовые микросферы, микроэмульсии, наночастицы и наночапсулы) или в макроэмульсиях. Такие методы раскрыты в Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Oslo, A., Ed. (1980).

Фармацевтические композиции, применяемые для введения *in vivo*, обычно предоставляются в виде стерильных препаратов. Стерилизацию можно осуществлять путем фильтрации сквозь мембраны для стерильной фильтрации. Если композицию лиофилизируют, то стерилизация с применением этого метода может быть проведена до или после лиофилизации и разведения. Композиции для парентерального введения могут храниться в лиофилизированной форме или в растворе. Композиции для парентерального введения обычно помещают в емкость, снабженную стерильным портом доступа, например, пакет для внутривенного раствора или флакон с пробкой, прокалываемой иглой для подкожной инъекции.

Другой аспект изобретения включает в себя самобуферизованную конструкцию антитела по изобретению, которая может быть применена в качестве фармацевтических композиций, как описано в международной патентной заявке WO 06/138181 A2 (PCT/US2006/022599). Разнообразный выбор доступен в отношении материалов и способов для стабилизации и составления белка, подходящих в этом отношении, например, Arakawa et al., "Solvent interactions in pharmaceutical formulations", *Pharm. Res.* 8(3):285-91 (1991); Kendrick et al., "Physical stabilization of proteins in aqueous solution" в RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS: THEORY AND PRACTICE, Carpenter and Manning, eds. *Pharmaceutical Biotechnology.* 13:61-84 (2002) и Randolph et al., "Surfactant-protein interactions", *Pharm. Biotechnol.* 13:159-75 (2002), см., в частности, разделы, относящиеся к вспомогательным веществам и способам их получения для самобуферизованных белковых составов в соответствии с настоящим изобретением, особенно в отношении белковых фармацевтических продуктов и способов для ветеринарного и/или медицинского применения.

Соли могут применяться в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения, например, для регулирования ионной силы и/или осмотического давления препарата и/или для улучшения растворимости и/или физической стабильности белка или другого ингредиента композиции в соответствии с изобретением. Как известно, ионы могут стабилизировать нативное состояние белков путем связывания с заряженными остатками на поверхности белка и путем экранирования заряженных и полярных групп в белке и снижения силы их электростатических взаимодействий, взаимодействий притяжения и отталкивания. Дополнительно, ионы могут стабилизировать денатурированное состояние белка путем связывания, в частности, с денатурированными пептидными связями (-CONH) белка. Кроме того, ионное взаимодействие с заряженными и полярными группами в белке может уменьшать межмолекулярные электростатические взаимодействия и тем самым предотвращать или уменьшать агрегацию белка и нерастворимость.

Виды ионов значительно различаются по их воздействию на белки. Был разработан ряд категориальных ранжировок ионов и их влияния на белки, которые могут быть применены при разработке фармацевтических композиций в соответствии с изобретением. Одним из примеров является ряд Гофмейстера, в котором ионные и полярные неионные растворенные вещества ранжированы по их влиянию на конформационную стабильность белков в растворе. Стабилизирующие растворенные вещества называются "космотропными". Дестабилизирующие растворенные вещества называются "хаотропными". Космотропы обычно применяются в высоких концентрациях (например, больше чем 1 молярный сульфат аммония) для осаждения белков из раствора ("высаливание"). Хаотропы обычно применяются для денатурации и/или для сольюбилизации белков ("всаливание"). Относительная эффективность ионов с точки зрения "всаливания" и "высаливания" определяет их положение в ряду Гофмейстера.

Свободные аминокислоты могут быть применены в препаратах конструкции антитела по изобретению в соответствии с различными вариантами осуществления изобретения в качестве наполнителей, стабилизаторов и антиоксидантов, а также для других стандартных целей. Лизин, пролин, серин и аланин могут быть применены для стабилизации белков в препарате. Глицин пригоден для лиофилизации, чтобы обеспечить правильную структуру и свойства таблетки. Аргинин может быть пригоден для подавления агрегации белка в жидких и лиофилизованных препаратах. Метионин пригоден в качестве антиоксиданта.

Полиоолы включают в себя сахара, например маннит, сахарозу и сорбит, и многоатомные спирты, например, такие как глицерин и пропиленгликоль, и для целей данного документа также полиэтиленгликоль (ПЭГ) и родственные вещества. Полиолы являются космотропами. Они представляют собой подходящие стабилизирующие агенты как в жидких, так и в лиофилизованных препаратах для защиты белков от процессов физической и химической деградации. Кроме того, полиолы подходят для регулирования осмотического давления препаратов. Среди полиолов, пригодных для отдельных вариантов осуществления изобретения, маннит, обычно применяемый для обеспечения структурной стабильности таблетки в лиофилизованных препаратах. Он обеспечивает структурную стабильность таблетки. Обычно его применяют с лиопротектором, например сахарозой. Сорбитол и сахароза являются одними из предпочтительных агентов для регулирования осмотического давления и в качестве стабилизаторов для защиты

от стрессов, связанных с замораживанием-оттаиванием во время транспортировки или подготовки белка в ходе производственного процесса. Восстанавливающие сахара (содержащие свободные альдегидные или кетонные группы), такие как глюкоза и лактоза, могут гликировать поверхностные остатки лизина и аргинина. Поэтому они обычно не входят в число предпочтительных полиолов для применения в соответствии с изобретением. Кроме того, сахара, которые образуют такие реакционноспособные вещества, такие как сахароза, которая в кислых условиях гидролизует до фруктозы и глюкозы и, следовательно, вызывают гликирование, также не входят в число предпочтительных в этом отношении полиолов по изобретению. ПЭГ пригоден для стабилизации белков и в качестве криопротектора и в этом отношении может применяться в изобретении.

Варианты препаратов конструкции антитела по изобретению дополнительно содержат поверхностно-активные вещества. Молекулы белка могут быть восприимчивы к адсорбции на поверхностях и денатурации с последующей агрегацией на границах воздуха-жидкости, твердого вещества-жидкости и жидкости-жидкости. Масштаб этих эффектов обычно обратно пропорционален концентрации белка. Масштаб таких вредных взаимодействий обычно обратно пропорционален концентрации белка, причем они обычно усугубляются физическим перемешиванием, например, возникающим во время транспортировки и обращения с продуктом. Поверхностно-активные вещества обычно применяются для предотвращения, минимизации или уменьшения адсорбции на поверхности. Подходящие в этом отношении поверхностно-активные вещества по изобретению включают в себя полисорбат 20, полисорбат 80, другие сложные эфиры жирных кислот и полиэтоксилатов сорбитана и полоксамер 188. Кроме того, поверхностно-активные вещества обычно применяются для контроля конформационной стабильности белка. Применение поверхностно-активных веществ в этом отношении специфично для белка, поскольку любое конкретное поверхностно-активное вещество обычно стабилизирует некоторые белки и дестабилизирует другие.

Полисорбаты восприимчивы к окислительной деградации и часто поставляются содержащими достаточное количество пероксидов, чтобы вызвать окисление боковых цепей остатков белка, особенно метионина. Следовательно, полисорбаты следует применять с осторожностью, а в случае их применения следует применять наименьшую эффективную концентрацию. В этом отношении полисорбаты представляют общее правило, согласно которому вспомогательные вещества следует применять в наименьших эффективных концентрациях.

Варианты препаратов конструкции антитела по изобретению дополнительно содержат один или большее количество антиоксидантов. Вредное окисление белков в фармацевтических композициях в определенной степени можно предотвратить, поддерживая надлежащие уровни кислорода в окружающей среде и температуру и избегая воздействия света. Кроме того, антиоксидантные вспомогательные вещества могут применяться для предотвращения окислительной деградации белков. Среди полезных в этом отношении антиоксидантов восстановители, поглотители кислорода/свободных радикалов и хелатирующие агенты.

Антиоксиданты для применения в композициях терапевтических белков в соответствии с изобретением предпочтительно являются водорастворимыми и сохраняют свою активность на протяжении всего срока годности продукта. В этом отношении ЭДТА является предпочтительным антиоксидантом в соответствии с изобретением. Антиоксиданты могут повреждать белки. Например, восстанавливающие агенты, в частности, такие как глутатион, могут разрывать внутримолекулярные дисульфидные связи. Таким образом, антиоксиданты для применения в изобретении отбираются, среди прочего, с тем, чтобы устранить или в достаточной степени уменьшить вероятность того, что они сами повредят белки в препарате.

Композиции в соответствии с изобретением могут содержать ионы металлов, которые являются кофакторами белка и которые необходимы для образования координационных комплексов белка, такие как цинк, необходимый для образования некоторых суспензий инсулина. Кроме того, ионы металлов могут подавлять некоторые процессы, в результате которых происходит деградация белка. Однако ионы металлов также катализируют физические и химические процессы, в результате которых происходит деградация белка. Ионы магния (10-120 мМ) могут применяться для подавления изомеризации аспарагиновой кислоты в изоаспарагиновую кислоту. Ионы Ca^{+2} (до 100 мМ) могут повысить стабильность дезоксирибонуклеазы человека. Однако Mg^{+2} , Mn^{+2} и Zn^{+2} могут дестабилизировать рекомбинантную человеческую ДНКазу (rhDNase). Аналогично, Ca^{+2} и Sr^{+2} могут стабилизировать фактор VIII, который может быть дестабилизирован Mg^{+2} , Mn^{+2} и Zn^{+2} , Cu^{+2} и Fe^{+2} , а его агрегация может быть усилена ионами Al^{+3} .

Варианты препаратов конструкции антитела по изобретению содержат также один или большее количество консервантов. Консерванты необходимы при разработке многодозовых препаратов для парентерального применения, которые предусматривают более одного извлечения из одной и той же емкости. Их основная функция заключается в подавлении роста микроорганизмов и обеспечении стерильности продукта на протяжении всего срока хранения или срока применения лекарственного продукта. Обычно применяемые консерванты включают в себя бензиловый спирт, фенол и м-крезол. Хотя консерванты имеют долгую историю применения в низкомолекулярных средствах для парентерального применения, разработка белковых препаратов, содержащих консерванты, может быть сложной задачей. Консерванты

почти всегда оказывают дестабилизирующее воздействие (агрегация) на белки, и это стало основным фактором, ограничивающим их применения в многодозовых препаратах белка. На сегодняшний день большинство белковых лекарственных средств составлено только для одноразового применения. Однако, если возможны многодозовые препараты, у них есть дополнительное преимущество, обеспечивающее удобство для пациента и повышенную конкурентоспособность. Хорошим примером является гормон роста человека (hGH), для которого разработка препаратов с консервантами привела к коммерциализации более удобных, многодозовых инъекционных форм в виде ручки. В данное время на рынке доступно по меньшей мере четыре таких устройства в виде ручки, содержащие препараты hGH с консервантами. Norditropin (жидкий, Novo Nordisk), Nutropin AQ (жидкий, Genentech) и Genotropin (лиофилизированный-двухкамерный картридж, Pharmacia & Upjohn) содержат фенол, тогда как Somatropе (Eli Lilly) составлен с м-крезолом. При составлении и разработке лекарственных форм с консервантами необходимо учитывать несколько аспектов. Эффективная концентрация консерванта в лекарственном продукте должна быть оптимизирована. Это требует тестирования конкретного консерванта в лекарственной форме с диапазонами концентраций, которые обеспечивают противомикробное действие без ущерба для стабильности белка.

Как и следовало ожидать, разработка жидких препаратов, содержащих консерванты, более сложна, чем лиофилизированных препаратов. Лيوфилизированные продукты можно лиофилизировать без консерванта и разводить разбавителем, содержащим консервант, во время применения. Это сокращает время, в течение которого консервант контактирует с белком, что значительно минимизирует связанные с этим риски для стабильности. При применении жидких препаратов эффективность и стабильность консерванта должны сохраняться в течение всего срока хранения продукта (приблизительно от 18 до 24 месяцев). Важно отметить, что эффективность консерванта должна быть продемонстрирована в конечном препарате, содержащем активное лекарственное средство и все вспомогательные компоненты.

Дополнительно, конструкции антител, описанные в данном изобретении, могут быть составлены в виде иммунолипосом. "Липосома" представляет собой небольшую везикулу, состоящую из различных видов липидов, фосфолипидов и/или поверхностно-активного вещества, подходящую для введения лекарственного средства млекопитающему. Компоненты липосомы обычно располагаются в двухслойном пласте, аналогично расположению липидов биологических мембран. Липосомы, содержащие конструкцию антитела, получают способами, известными в данной области техники, такими как описано в Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4030 (1980); патенты США № 4485045 и 4544545 и WO 97/38731. Липосомы с увеличенным временем нахождения в кровотоке описаны в патенте США № 5013556. Особенно подходящие липосомы могут быть получены методом обращенно-фазового испарения с липидной композицией, содержащей фосфатидилхолин, холестерин и дериватизированный фосфатидилэтаноламин ПЭГ, ПЭГ-ФЭ (PEG-PE). Липосомы экструдированы через фильтры с определенным размером пор, чтобы получить липосомы требуемого диаметра. Фрагменты Fab' конструкции антитела по данному изобретению могут быть конъюгированы с липосомами, как описано в Martin et al. J. Biol. Chem. 257:286-288 (1982), посредством введения в реакцию дисульфидного обмена. В липосоме обязательно содержится химиотерапевтическое средство, см. Gabizon et al. J. National Cancer Inst. 81(19), 1484 (1989).

После того, как фармацевтическая композиция была составлена, ее можно хранить в стерильных флаконах в виде раствора, суспензии, геля, эмульсии, твердого вещества, кристалла или в виде обезвоженного или лиофилизированного порошка. Такие препараты могут храниться в готовой к употреблению форме или в форме (например, лиофилизированной), которую разводят перед введением.

Биологическая активность фармацевтической композиции, определенной в данном изобретении, может быть определена, например, в анализе цитотоксичности, как описано в следующих примерах, в WO 99/54440 или Schlereth et al. (Cancer Immunol. Immunother., 20 (2005), 1-12). "Эффективность" или "эффективность in vivo", как используется в данном документе, относится к реакции на терапию фармацевтической композицией по изобретению, оцененной с применением, например, стандартизированных критериев ответа Национального института рака, НИР (NCI). Эффективность или эффективность in vivo терапии с применением фармацевтической композиции по изобретению относится к эффективности композиции по прямому назначению, т.е. к способности композиции вызывать желаемый эффект, т.е. истощение патологических клеток, например, опухолевых клеток. Эффективность in vivo можно контролировать при помощи проверенных стандартных методов для соответствующих нозологических единиц, в том числе, но не ограничиваясь этим, при помощи подсчета лейкоцитов, дифференциалов, сортировки клеток с активированной флуоресценцией, аспирации костного мозга. Дополнительно, могут использоваться различные, специфические для заболевания показатели клинической химии и другие проверенные стандартные методы. Кроме того, могут быть применены компьютерная томография, рентгеновская томография, ядерная магнитно-резонансная томография (например, для оценки ответа на основе критериев Национального института рака [Cheson B.D., Horning S.J., Coiffier B., Shipp M.A., Fisher R.I., Connors J.M., Lister T.A., Vose J., Grillo-Lopez A., Hagenbeek A., Cabanillas F.A., Klippensten D., Hiddemann W., Castellino R., Harris N.L., Armitage J.O., Carter W., Hoppe R., Canellos G.P. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored

International Working Group. J. Clin. Oncol. 1999 Apr; 17(4):1244]), сканирующая позитронно-эмиссионная томография, подсчет количества лейкоцитов, дифференциалы, сортировка клеток с активированной флуоресценцией, аспирация костного мозга, биопсия/гистология лимфатических узлов и различные показатели клинической химии, специфические для лимфомы (например, лактатдегидрогеназа), и другие проверенные стандартные методы.

Другой важной задачей при разработке лекарственных средств, таких как фармацевтическая композиция по изобретению, является предсказуемая модуляция фармакокинетических свойств. С этой целью может быть установлен фармакокинетический профиль потенциального лекарственного средства, т.е. профиль фармакокинетических показателей, которые влияют на способность конкретного лекарственного средства лечить данное состояние. Фармакокинетические показатели лекарственного средства, влияющие на способность лекарственного средства лечить определенное заболевание, включают в себя, но не ограничиваясь этим, период полувыведения, объем распределения, пресистемный метаболизм в печени и степень связывания с сывороткой крови. Каждый из указанных выше показателей может влиять на эффективность конкретного лекарственного агента.

"Период полувыведения" означает время, за которое 50% вводимого лекарственного средства элиминируется посредством биологических процессов, например метаболизма, экскреции и т.д. Под "пресистемным метаболизмом в печени" подразумевается склонность лекарственного средства метаболизироваться при первом контакте с печенью, т.е. во время первого прохождения через печень. "Объем распределения" означает степень удерживания лекарственного средства во всех биологических купе организма, таких как, например, внутриклеточные и внеклеточные пространства, ткани и органы и т.д., а также распределение препарата в этих биологических купе. "Степень связывания с сывороткой крови" означает склонность лекарственного средства к взаимодействию с белками сыворотки крови и его связывание с белками сыворотки крови, такими как альбумин, что приводит к снижению или потере биологической активности лекарственного средства.

Кроме того, фармакокинетические параметры включают в себя биодоступность, латентный период (T_{lag}), T_{max} , скорость абсорбции, в большей степени момент начала действия и/или C_{max} для данного количества вводимого лекарственного средства. "Биодоступность" означает количество лекарственного средства в биологическом купе крови. "Латентный период" означает временную задержку между введением лекарственного средства и его обнаружением и измеримостью в крови или плазме. " T_{max} " представляет собой время, в течение которого достигается максимальная концентрация лекарственного средства в крови, а " C_{max} " представляет собой максимальную концентрацию в крови, полученную при применении данного лекарственного средства. На время достижения концентрации лекарственного средства в крови или ткани, которая требуется для его биологического действия, влияют все показатели. Фармакокинетические параметры конструкций биспецифических антител, проявляющих перекрестно-видовую специфичность, которые могут быть определены в доклиническом тестировании на животных у приматов, не относящихся к шимпанзе, как описано выше, дополнительно изложены, например, в публикации Schlereth et al. (Cancer Immunol. Immunother., 20 (2005), 1-12).

Один вариант осуществления изобретения предусматривает конструкцию антитела по изобретению или конструкцию антитела, полученную в соответствии со способом по изобретению, для применения при предупреждении, лечении или облегчении состояния при опухоли или раковом заболевании или метастатическом раковом заболевании.

Препараты, описанные в данном документе изобретении, пригодны в качестве фармацевтических композиций при лечении, улучшении и/или предупреждении патологического медицинского состояния, как описано в данном изобретении, у пациента, нуждающегося в этом. Термин "лечение" относится как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или превентивным мерам. Лечение включает в себя применение или введение препарата в организм, выделенную ткань или клетку пациента, у которого присутствует заболевание/расстройство, симптом заболевания/расстройства или предрасположенность к заболеванию/расстройству, с целью излечения, лечения, смягчения, облегчения, модификации, устранения, улучшения, ослабления или влияния на заболевание, симптом заболевания или предрасположенность к заболеванию.

Как используется в данном изобретении, термин "улучшение" относится к любому улучшению состояния при заболевании у пациента с опухолью или раком или метастатическим раком, как указано в данном документе ниже, путем введения конструкции антитела согласно изобретению субъекту, нуждающемуся в этом. Такое улучшение дополнительно можно рассматривать как замедление или остановку прогресса опухоли или рака или метастатического рака у пациента. Как используется в данном изобретении, термин "предупреждение" означает предотвращение возникновения или рецидива у пациента с опухолью или раком или метастатическим раком, как указано в данном документе ниже, путем введения конструкции антитела в соответствии с изобретением субъекту, нуждающемуся в этом.

Термин "заболевание" относится к любому состоянию, при котором лечение описанной в данном изобретении конструкцией антитела или фармацевтической композицией могло бы принести пользу. Это включает в себя хронические и острые расстройства или заболевания, включая те патологические состояния, которые предрасполагают млекопитающее к рассматриваемому заболеванию.

"Новообразование" представляет собой аномальный рост ткани, обычно, но не всегда образующей опухолевое образование. Если также образуется опухолевое образование, его обычно называют "опухолью". Новообразования или опухоли могут быть доброкачественными, потенциально злокачественными (предраковыми) или злокачественными. Злокачественные новообразования обычно называют раком. Они обычно вторгаются и разрушают окружающую ткань и могут образовывать метастазы, т.е. они распространяются на другие части, ткани или органы организма. Следовательно, термин "метастатический рак" включает в себя метастазы в другие ткани или органы, кроме исходной опухоли. Лимфомы и лейкозы представляют собой лимфоидные новообразования. Для целей данного изобретения они также включены в термины "опухоль" или "рак".

В предпочтительном варианте осуществления изобретения опухолевое или раковое заболевание выбрано из группы, включающей (но не ограничиваясь этим) рак легкого или предпочтительно SCLC, молочной железы, шейки матки, ободочной кишки, колоректального отдела, эндометрия, головы и шеи, печени, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, кожи, желудка, яичка, щитовидной железы, надпочечников, почек, мочевого пузыря, матки, пищевода, уретерия и опухоли головного мозга или рак, лимфому, карциному и саркому и метастатическое раковое заболевание, происходящее из вышеперечисленных.

Более конкретно, опухолевое или раковое заболевание может быть выбрано из группы, состоящей из мелкоклеточного рака легкого (SCLC), немелкоклеточного рака легкого, НМКРЛ (NSCLC), глиомы, глиобластомы, меланомы, нейроэндокринного рака предстательной железы, нейроэндокринного рака поджелудочной железы, гепатобластомы и гепатоцеллюлярной карциномы.

Метастатическое раковое заболевание может происходить из любого из вышеперечисленных.

Кроме того, изобретение относится к способу лечения или облегчения опухоли, или онкологического заболевания, или метастатического ракового заболевания, включающему стадию введения субъекту, нуждающемуся в этом, конструкции антитела по изобретению или конструкции антитела, полученной в соответствии со способом по изобретению.

Термины "субъект, нуждающийся в этом" или "нуждающиеся в лечении" включают в себя тех, у кого уже присутствует расстройство, а также тех, у кого это расстройство должно быть предотвращено. Субъект, нуждающийся в этом, или "пациент" включает в себя человека и других млекопитающих субъектов, которые получают профилактическое или терапевтическое лечение.

Конструкция антитела по изобретению, как правило, предназначена для конкретных путей и способов введения, для конкретных дозировок и частоты введения, для конкретного лечения конкретных заболеваний, с диапазонами биологической доступности и устойчивости, среди прочего. Материалы композиции предпочтительно составлены в концентрациях, приемлемых для места введения.

Таким образом, препараты и композиции могут быть разработаны в соответствии с изобретением для введения любым подходящим способом введения. В контексте данного изобретения способы введения включают в себя, но не ограничиваясь этим:

местные способы (такие как кожный, ингаляционный, назальный, офтальмологический, аурикулярный/ушной, вагинальный, на слизистую оболочку);

энтеральные способы (такие как пероральный, гастроинтестинальный, сублингвальный, сублабиальный, буккальный, ректальный);

парентеральные способы (такие как внутривенный, внутриартериальный, внутрикостный, внутримышечный, внутримозговой, интрацеребровентрикулярный, эпидуральный, интратекальный, подкожный, внутрибрюшинный, экстраамниотический, внутрисуставный, внутрисердечный, внутрикожный, внутриочаговый, внутриматочный, внутрипузырный, интравитреальный, трансдермальный, интраназальный, трансмукозальный, внутрисуставной, интралюминальный).

Фармацевтические композиции и конструкция антитела по данному изобретению особенно пригодны для парентерального введения, например подкожного или внутривенного введения, например, путем инъекции, такой как инъекция болюса, или путем инфузии, такой как непрерывная инфузия. Фармацевтические композиции можно вводить с применением медицинского устройства. Примеры медицинских устройств для введения фармацевтических композиций описаны в патентах США № 4475196; 4439196; 4447224; 4447233; 4486194; 4487603; 4596556; 4790824; 4941880; 5064413; 5312335; 5312335; 5383851 и 5399163.

В частности, в данном изобретении предложено непрерывное введение подходящей композиции. В качестве неограничивающего примера непрерывное или практически непрерывное, т.е. длительное, введение может быть реализовано при помощи небольшой насосной системы, которую носит пациент, для измерения притока терапевтического агента в организм пациента. Фармацевтическую композицию, содержащую конструкцию антитела по изобретению, можно вводить с применением указанных насосных систем. Такие насосные системы обычно известны в данной области техники и обычно предполагают периодическую замену картриджа, содержащих терапевтический агент для введения. При замене картриджа в такой насосной системе может произойти временное прерывание в противном случае непрерывного потока терапевтического агента в организм пациента. В таком случае фаза введения перед заменой картриджа и фаза введения после замены картриджа все еще будут рассматриваться в значении фар-

мацевтических средств и способов согласно изобретению, вместе составляющих одно "непрерывное введение" такого терапевтического агента.

Непрерывное или беспрерывное введение конструкций антител по изобретению может осуществляться внутривенно или подкожно посредством устройства для введения жидкости или небольшой насосной системы, оснащенной механизмом подачи жидкости, который выводит жидкость из резервуара, и пусковым механизмом для приведения в действие механизма для подачи. Системы насосов для подкожного введения могут быть оборудованы иглой или канюлей для проникновения сквозь кожу пациента и введения подходящей композиции в организм пациента. Указанные насосные системы могут быть непосредственно закреплены или прикреплены к коже пациента независимо от вены, артерии или кровеносного сосуда, тем самым обеспечивая прямой контакт между насосной системой и кожей пациента. Насосная система может быть прикреплена к коже пациента в течение периода от 24 ч до нескольких дней. Насосная система может быть небольшого размера с резервуаром для небольших объемов. В качестве неограничивающего примера, объем резервуара для подходящей фармацевтической композиции для введения может составлять от 0,1 до 50 мл.

Кроме того, непрерывное введение может осуществляться трансдермально при помощи пластыря, закрепленного на коже и периодически заменяемого. Специалисту в данной области техники известны системы пластырей для доставки лекарственных средств, подходящие для этой цели. Следует отметить, что трансдермальное введение особенно подходит для непрерывного введения, поскольку замена первого израсходованного пластыря может быть успешно произведена одновременно с размещением нового второго пластыря, например, на поверхности кожи, непосредственно примыкающей к первому израсходованному пластырю, и непосредственно перед удалением первого израсходованного пластыря. Не возникает проблем с прерыванием потока или сбоем элемента питания.

Если фармацевтическая композиция лиофилизирована, то лиофилизированный материал сначала разводят в соответствующей жидкости перед введением. Лиофилизированный материал может быть разведен, например, в бактериостатической воде для инъекций, БВИ (BWF1), физиологическом растворе, фосфатно-солевом буфере, ФСБ (PBS) или в том же препарате, что и белок до лиофилизации.

Композиции по данному изобретению можно вводить субъекту в подходящей дозе, которая может быть определена, например, путем исследований с повышением дозы при введении увеличивающихся доз конструкции антитела по изобретению, которая проявляет перекрестно-видовую специфичность, описанной в данном изобретении, приматам, не относящимся к шимпанзе, например макаку. Как указано выше, конструкция антитела по изобретению, проявляющая перекрестно-видовую специфичность, описанная в данном изобретении, преимущественно может быть применена в идентичной форме при доклиническом тестировании на приматах, не относящихся к шимпанзе, и в качестве лекарственного средства у человека. Схема введения будет определяться лечащим врачом и клиническими факторами. Как известно в области медицины, дозы для любого конкретного пациента зависят от многих факторов, включая размеры пациента, площадь поверхности тела, возраст, конкретное вводимое соединение, пол, время и способ введения, общее состояние здоровья и другие лекарственные средства, вводимые параллельно.

Термин "эффективная доза" или "эффективная дозировка" определяется как количество, достаточное для достижения или по меньшей мере частичного достижения желаемого эффекта. Термин "терапевтически эффективная доза" определяется как количество, достаточное для излечения или по меньшей мере частичной остановки заболевания и его осложнений у пациента, уже страдающего этим заболеванием. Количества или дозы, эффективные для такого применения, будут зависеть от состояния, подлежащего лечению (показание), вводимой конструкции антитела, терапевтического контекста и целей, тяжести заболевания, предшествующей терапии, анамнеза пациента и реакции на терапевтический агент, способа введения, размера (масса тела, поверхность тела или размер органа) и/или состояния (возраст и общее состояние здоровья) пациента, а также общего состояния собственной иммунной системы пациента. Надлежащая доза может быть скорректирована по решению лечащего врача, таким образом, что ее можно вводить пациенту один раз или в виде серии доз и до достижения оптимального терапевтического эффекта.

Типичная доза может варьироваться от около 0,1 мкг/кг до около 30 мг/кг или более, в зависимости от факторов, указанных выше. В конкретных вариантах осуществления изобретения доза может варьироваться от 1,0 мкг/кг до примерно 20 мг/кг, необязательно, от 10 мкг/кг до около 10 мг/кг или от 100 мкг/кг до около 5 мг/кг.

Терапевтически эффективное количество конструкции антитела по изобретению предпочтительно приводит к снижению тяжести симптомов заболевания, увеличению частоты или продолжительности периодов без симптомов заболевания или предотвращению ухудшения или инвалидности вследствие заболевания. При лечении опухолей, экспрессирующих ДПБЗ (DLL3), терапевтически эффективное количество конструкции антитела по изобретению, например конструкции антитела против ДПБЗ (DLL3)/против CD3 (CD3), предпочтительно подавляет рост клеток или рост опухоли по меньшей мере примерно на 20%, по меньшей мере примерно на 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80% или по меньшей мере около 90% относительно нелеченных пациентов. Способность соединения подавлять рост опухоли можно оценить

на животной модели, позволяющей прогнозировать эффективность в отношении опухолей человека.

Фармацевтическую композицию можно вводить в качестве монотерапии или, при необходимости, в сочетании с дополнительными терапевтическими средствами, такими как противораковые терапевтические средства, например другие белковые и небелковые препараты. Эти лекарственные средства можно вводить одновременно с композицией, содержащей конструкцию антитела по изобретению, как определено в данном изобретении, или по отдельности, до или после введения указанной конструкции антитела, в пределах определенных промежутков и доз.

Как используется в данном изобретении, термин "эффективная и нетоксичная доза" относится к переносимой дозе конструкции антитела по изобретению, которая достаточно высока, чтобы вызвать истощение патологических клеток, ликвидацию опухоли, уменьшение размера опухоли или стабилизацию заболевания без или по существу без значительных токсических эффектов. Такие эффективные и нетоксичные дозы могут быть определены, например, в исследованиях с повышением дозы, описанных в данной области техники, и должны быть ниже дозы, вызывающей серьезные побочные эффекты (ограничивающая дозу токсичность (DLT)).

Как используется в данном изобретении, термин "токсичность" относится к токсическому воздействию препарата, проявляющемуся побочными эффектами или тяжелыми побочными эффектами. Такие побочные эффекты могут относиться к непереносимости препарата в целом и/или к местной непереносимости после введения. Кроме того, токсичность может включать в себя тератогенный или канцерогенный эффект лекарственного средства.

Термины "безопасность", "безопасность *in vivo*" или "переносимость", как они используются в данном документе, определяют введение лекарственного средства, которое не вызывает тяжелых побочных эффектов непосредственно после введения (местная переносимость) и в течение периода последующего наблюдения препарата. "Безопасность", "безопасность *in vivo*" или "переносимость" можно оценивать, например, через регулярные промежутки времени в ходе лечения и в течение периода наблюдения. Показатели включают в себя клиническую оценку, например проявления со стороны органов, и скрининг на предмет отклонений лабораторных показателей. Может быть проведена клиническая оценка, и отклонения от нормальных результатов, зарегистрированы/классифицированы в соответствии со стандартами Общих критериев токсичности Национального института рака, ОКТ-НИР (NCI-CTC) и/или Медицинского словаря регуляторной деятельности, МСРД (MedDRA). Проявления со стороны органов могут включать в себя такие критерии, как аллергия/иммунология, кровь/костный мозг, сердечная аритмия, коагуляция и т.п., как указано, например, в Общих критериях терминологии для побочных эффектов версии 3.0, ОКТПЭ (CTCAE). Лабораторные показатели, которые могут быть проверены, включают в себя, например, гематологию, клиническую химию, профиль коагуляции, анализ мочи и исследование других жидкостей организма, таких как сыворотка, плазма, лимфоидная или спинномозговая жидкость, ликвор и т.п. Таким образом, безопасность может быть оценена, например, путем медицинского осмотра, методами визуализации (например, ультразвуковым, рентгенографическим, компьютерной томографией, магнитно-резонансной томографией, МРТ (MRI), другими способами с применением технических устройств (например, электрокардиограмма), по основным показателям жизнедеятельности, путем измерения лабораторных показателей и регистрации побочных эффектов, например, побочные эффекты у приматов, не относящихся к шимпанзе, при применении и в способах согласно изобретению могут быть исследованы гистопатологическими и/или гистохимическими методами.

Кроме того, вышеуказанные термины упоминаются, например, в Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived Pharmaceuticals S6; ICH Harmonised Tripartite Guideline; ICH Steering Committee meeting on July 16, 1997.

В дополнительном варианте осуществления изобретение относится к набору, содержащему конструкцию антитела по изобретению, конструкцию антитела, полученную в соответствии со способом по изобретению, полипептид по изобретению, вектор по изобретению и/или клетку-хозяина по изобретению.

В контексте данного изобретения термин "набор" означает два или большее количество компонентов, один из которых соответствует конструкции антитела, фармацевтической композиции, вектору или клетке-хозяину по изобретению, совместно упакованных в емкость-реципиент или иначе. Таким образом, набор можно описать как набор продуктов и/или емкостей, достаточных для достижения определенной цели, который может продаваться как единое целое.

Набор может содержать один или большее количество реципиентов (таких как флаконы, ампулы, емкости, шприцы, бутылки, пакеты) любой подходящей формы, размера и из любого подходящего материала (предпочтительно водонепроницаемого, например пластик или стекло), содержащие конструкцию антитела или фармацевтическую композицию по данному изобретению в соответствующей дозировке для введения (см. выше). Набор может дополнительно содержать указания по применению (например, в виде брошюры или инструкции по применению), средства для введения конструкции антитела по данному изобретению, такие как шприц, насос, инфузор и т.п., средства для разведения конструкции антитела по изобретению и/или средства для разведения конструкции антитела по изобретению.

Кроме того, в изобретении предложены наборы для модуля одноразового введения. Набор по изо-

бретению может дополнительно содержать первый реципиент, содержащий сухую/лиофилизированную конструкцию антитела, и второй реципиент, содержащий водный препарат. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предложены комплекты, содержащие предварительно заполненные однокамерные и многокамерные шприцы (например, шприцы с жидкостью и шприцы с лиофилизатом).

На чертежах проиллюстрированы:

фиг. 1 - схематическое представление ДПБЗ (DLL3)-ВКД/укороченных конструкций ДПБЗ (DLL3), экспрессируемых на клетках СНО для картирования эпитопов. Трансмембранный и внутриклеточный домены получены из АМЭК (ErCAM), см. Пример 1;

фиг. 2 - картирование эпитопа для конструкций антител против ДПБЗ (DLL3). Примеры конструкций биспецифических антител, распознающих домен EGF-3 и домен EGF-4 соответственно, обнаруженных при картировании эпитопов. Ось X отображает PE-A (PE = фикоэритрин, A = область сигнала), а ось y отображает импульсы, см. Пример 2;

фиг. 3 - перекрестная реактивность конструкций антител против ДПБЗ (DLL3) по данным проточной цитометрии: связывание с ДПБЗ (DLL3) и CD3 (CD3) человека и макака. Ось x отображает FL2-H, а ось y отображает импульсы; см. Пример 5;

фиг. 4 - анализ конструкций антител против ДПБЗ (DLL3) при помощи проточной цитометрии: не связывается с паралогами человека DLL1 и DLL4. Ось x изображает FL1-H, а ось y отображает импульсы; см. Пример 6;

фиг. 5 - стабильность конструкций антител против ДПБЗ (DLL3) после инкубации в плазме человека в течение 96 ч; см. Пример 11;

фиг. 6 - зазор активности между мономерной и димерной изоформой конструкций антител против ДПБЗ (DLL3); см. Пример 15;

фиг. 7 - тест на интернализацию *in vitro*, проведенный, как описано в Примере 16. Конструкцию антитела предварительно инкубируют на клетках-мишенях (SHP-77) в отсутствие Т-клеток, чтобы измерить потерю конструкции антитела в результате интернализации. Результаты показывают, что значительной интернализации не происходит. Для сравнения справа показаны результаты, достигнутые с контрольной мишенью, которая характеризуется хорошо известной интернализацией;

фиг. 8 - результаты исследования эффективности на модели ксенотрансплантата SHP-77 у мышей (фиг. 8А) и модели WM266-4 (фиг. 8В). Зависимость объема опухоли от времени нанесена на график; см. Пример 18;

фиг. 9. Фармакокинетика различных конструкций анти-HLE антител (слияние с альбумином на фиг. 9А и слияние с Fc на фиг. 9В), как определено в Примере 20.

Примеры

Следующие примеры иллюстрируют изобретение. Эти примеры не должны толковаться как ограничивающие объем данного изобретения. Данное изобретение ограничено только формулой изобретения.

Пример 1.

Генерация клеток СНО, экспрессирующих ДПБЗ (DLL3) дикого типа и укороченный.

Внеклеточный домен антигена ДПБЗ (DLL3), можно разделить на различные субдомены или участки, которые определены для целей Примеров 1 и 2, следующими положениями аминокислот:

сигнальный пептид: 1-26,

N-конец: 27-175,

ДСП (DSL): 176-215,

EGF-1: 216-249,

EGF-2: 274-310,

EGF-3: 312-351,

EGF-4: 353-389,

EGF-5: 391-427,

EGF-6: 429-465.

Для конструирования укороченных молекул ДПБЗ (DLL3), применяемых для картирования эпитопов, последовательности соответствующих восьми внеклеточных доменов (сигнальный пептид плюс N-конец, ДСП (DSL), EGF1, EGF2, EGF3, EGF4, EGF5 и EGF6) ДПБЗ (DLL3) человека постадийно удаляли из антигена, начиная с N-конца. Были получены следующие молекулы; см. также фиг. 1:

Hu ДПБЗ (DLL3)-ВКД/полноразмерный ВКД SEQ ID NO: 263,

Hu ДПБЗ (DLL3)-ВКД/ до ДСП (DSL) SEQ ID NO: 264,

Hu ДПБЗ (DLL3)-ВКД/ до EGF-1 SEQ ID NO: 265,

Hu ДПБЗ (DLL3)-ВКД/до EGF-2 SEQ ID NO: 266,

Hu ДПБЗ (DLL3)-ВКД/до EGF-3 SEQ ID NO: 267,

Hu ДПБЗ (DLL3)-ВКД/до EGF-4 SEQ ID NO: 268,

Hu ДПБЗ (DLL3)-ВКД/до EGF-5 SEQ ID NO: 269,

Hu ДПБЗ (DLL3)-ВКД/только EGF-6 SEQ ID NO: 270.

Для генерации клеток СНО, экспрессирующих ДПБЗ (DLL3) человека, яванского макака ("яванца")

и укороченный человеческий ДПБЗ (DLL3) с маркером V5 на N-конце, соответствующие кодирующие последовательности для ДПБЗ (DLL3)-ВКД человека (SEQ ID NO: 253, см. также учетный номер GeneBank NM 016941), ДПБЗ (DLL3)-ВКД яванца (SEQ ID NO: 272) и семь укороченных версий ДПБЗ (DLL3)-ВКД человека с маркером V5 на N-конце (см. выше) клонируют в плазмиду, обозначенную pEF-DHFR (pEF-DHFR описана в Raum et al., *Cancer Immunol Immunother*, 50 (2001), 141-150). Для экспрессии на клеточной поверхности ДПБЗ (DLL3) человека и яванца применяют исходный сигнальный пептид, а для экспрессии на клеточной поверхности укороченного N-концевого ДПБЗ (DLL3) человека применяют сигнальный пептид тяжелой цепи мышиного IgG с последующим маркером V5. Все указанные последовательности ДПБЗ (DLL3)-ВКД отслеживаются в рамке считывания при помощи кодирующей последовательности искусственного линкера Ser/Gly, за которым следует домен, полученный из трансмембранного/внутриклеточного домена АМЭК (ErCAM) человека (аминокислоты 266-314 последовательности, опубликованной в GenBank под учетным номером NM 002354). Все процедуры клонирования выполняют в соответствии со стандартными протоколами (Sambrook, *Molecular Cloning; A Laboratory Manual*, 3rd edition, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, New York (2001)). Для каждой конструкции соответствующую плазмиду трансфектируют в ДГФР (DHFR)-дефицитные клетки CHO для эукариотической экспрессии, как описано Kaufman R.J. (1990), *Methods Enzymol.* 185, 537-566.

Экспрессию ДПБЗ (DLL3) человека и яванца на клетках CHO проверяют в анализе СКАФ (FACS) с применением моноклонального мышиного IgG2b антитела против ДПБЗ (DLL3) человека. Экспрессию семи укороченных версий ДПБЗ (DLL3)-ВКД человека проверяют с применением моноклонального мышиного IgG2a антитела против маркера v5. Связанное моноклональное антитело обнаруживают при помощи анти-мышиного IgG Fc-гамма-ФЭ. В качестве отрицательного контроля клетки инкубируют с антителом контрольного изотипа вместо первого антитела. Образцы анализируют при помощи проточной цитометрии.

Пример 2.

Картирование эпитопов для конструкций антител против ДПБЗ (DLL3).

Клетки, трансфектированные ДПБЗ (DLL3) человека и молекулами укороченного ДПБЗ (DLL3) человека (см. Пример 1), окрашивают неочищенным, неразбавленным периплазматическим экстрактом, содержащим конструкции биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СД3 (CD3) (с СД3 (CD3)-связывающим доменом, обозначенным как I2C), слитыми с альбумином человека (вариант 1) в ФСБ (PBS)/1,5% фетальной телячьей сыворотки, ФТС (FCS). Связанные молекулы обнаруживают при помощи мышиного моноклонального антитела против СД3 (CD3)-связывающего домена (50 мкл), а затем при помощи Fc-гамма-ФЭ против мышиного IgG (1:100, 50 мкл, Jackson Immunoresearch № 115-116-071) Все антитела разводят в ФСБ (PBS)/1,5% ФТС (FCS). В качестве отрицательного контроля клетки инкубируют с ФСБ (PBS)/2% ФТС (FCS) вместо периплазматического экстракта. Образцы анализируют методом проточной цитометрии.

Участки, которые были распознаны соответствующими связывающими доменами ДПБЗ (DLL3), приведены в таблице последовательностей (табл. 18). Были сопоставлены связывающие агенты, которые были специфичными в отношении эпитопа, расположенного на N-конце ДПБЗ (DLL3), в домене ДСП (DSL) и в пределах разных доменов эпидермального фактора роста (EGF).

На фиг. 2 проиллюстрированы два типичных связывающих агента, которые связываются с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка EGF-3 (исчезновение сигнала СКАФ (FACS) в соответствующих укороченных конструкциях ДПБЗ (DLL3), не содержащих EGF-3). Кроме того, на фиг. 2 проиллюстрирован типичный связывающий агент, который связывается с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка EGF-3 (исчезновение сигнала СКАФ (FACS) в соответствующих укороченных конструкциях ДПБЗ (DLL3), не содержащих EGF-4).

Некоторые из связывающих агентов описаны как специфические для эпитопа, находящегося в пределах участка, обозначенного как EGF-5/[6]. Квадратные скобки означают, что сигнал СКАФ (FACS) связывающего агента уменьшался (т.е. не присутствовал с полной интенсивностью и не полностью исчезал) для укороченной конструкции ДПБЗ (DLL3), содержащей только домен EGF-6 слева (последняя конструкция на фиг. 1).

Биспецифические конструкции против ДПБЗ (DLL3)×СД3 (CD3), применяемые в следующих примерах, выбирают из числа тех конструкций, которые содержат "I2C" в качестве домена связывания с СД3 (CD3) и содержат C-концевое слияние с сывороточным альбумином человека дикого типа, см., например, SEQ ID NO: 224-230, 233-235, 238-241.

Пример 3.

Определение аффинности антитела к ДПБЗ (DLL3) человека и яванского макака при помощи *Viacore*.

Эксперименты с анализом *Viacore* проводят с применением рекомбинантных химерных белков ДПБЗ (DLL3)-ВКД человека/яванца с куриным альбумином для определения связывания конструкций антител по изобретению с мишенями.

Подробно, на сенсорных чипах CM5 (GE Healthcare) иммобилизируют приблизительно

600-800 условных единиц, у.е. (RU) соответствующего рекомбинантного антигена с применением ацетатного буфера, pH 4,5 в соответствии с руководством производителя. Образцы конструкции биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) загружают в серии разведений со следующими концентрациями: 50, 25, 12,5, 6,25 и 3,13 нМ, разбавленные в буферизованном ГЭПЭС-солевом буфере, (HBS-EP, GE Healthcare). Скорость потока составляет 30 мкл/мин в течение 3 мин, затем снова подают проточный буфер ГСБ-ЭТ (HBS-EP) в течение 8 мин, до точки времени 20 мин при скорости потока 30 мкл/мл. Регенерацию чипа проводят с применением раствора, содержащего 10 мМ глицина, 10 мМ NaCl, pH 1,5. Наборы данных анализируют с применением программного обеспечения ViaEval. В целом были проведены два независимых эксперимента.

Конструкции биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) в соответствии с изобретением продемонстрировали очень высокую аффинность к ДПБЗ (DLL3) человека в субнанолярном диапазоне (за исключением ДПБЗ (DLL3)-13, для которого значение KD находилось в диапазоне очень низких однозначных нанолярных значений). Связывание с ДПБЗ (DLL3) макака было сбалансированным, также демонстрируя значения аффинности в аналогичных диапазонах. Значения аффинности, а также вычисленный зазор аффинности приведены в табл. 2.

Таблица 2

Значения аффинности конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) человека и ДПБЗ (DLL3) макака, по данным анализа ViaSog, а также вычисленный зазор межвидовой аффинности

Конструкция биспецифического антитела против DLL3 x CD3	KD hu DLL3 [нМ]	KD яванца DLL3 [нМ]	Зазор аффинности KD mac/KD hu
DLL3-4	0,41	0,55	1,34
DLL3-5	0,82	1,03	1,26
DLL3-6	0,55	0,75	1,36
DLL3-7	0,19	0,29	1,52
DLL3-8	0,69	0,96	1,39
DLL3-9	0,35	0,54	1,54
DLL3-10	0,24	0,33	1,38
DLL3-13	1,74	5,55	3,19
DLL3-14	0,47	0,86	1,83
DLL3-15	0,45	0,69	1,53

Кроме того, связывание конструкций биспецифических антител с СДЗ (CD3) человека и СДЗ (CD3) макака было подтверждено в анализе ViaSog, как находящееся в диапазоне низких двухзначных нанолярных значений (данные не показаны).

Пример 4.

Анализ аффинности биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) человека и ДПБЗ (DLL3) макака на целевых антиген-положительных клетках и определение межвидового зазора аффинности при помощи Scatchard.

Значения аффинности конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) к клеткам CHO, трансфектированным ДПБЗ (DLL3) человека или макака, также были определены при помощи анализа Scatchard как наиболее надежного метода для определения потенциальных зазоров аффинности между ДПБЗ (DLL3) человека и макака. Для анализа Scatchard эксперименты по насыщению связывания выполняют с применением системы одновалентного обнаружения для точного определения одновалентного связывания конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) с соответствующей клеточной линией.

2×10^4 клеток соответствующей клеточной линии (экспрессирующая рекомбинантный ДПБЗ (DLL3) человека клеточная линия CHO, экспрессирующая рекомбинантный ДПБЗ (DLL3) макака клеточная линия CHO) инкубируют в каждом случае с 50 мкл серий триплетных разведений (12 разведений 1:2) соответствующей конструкции биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) (до достижения насыщения), начиная с 10-20 нМ, с последующей инкубацией в течение 16 ч при 4°C с перемешиванием и одной стадией остаточного промывания. Затем клетки инкубируют в течение еще 1 ч с 30 мкл раствора конъюгата СДЗ (CD3)×ALEXA488. После одностадийного промывания клетки ресуспандируют в 150 мкл буфера СКАФ (FACS), содержащего 3,5% формальдегида, инкубируют еще в течение 15 мин, центрифугируют, ресуспандируют в буфере СКАФ (FACS) и анализируют с применением аппарата СКАФ (FACS) CantoII и программного обеспечения FACS Diva. Данные получены из двух независимых наборов экспериментов, каждый из которых включал три параллельных эксперимента. Проводят вычисления для соответствующего анализа Scatchard с целью экстраполяции максимального связывания (B_{max}). Определяют концентрации конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ

(CD3) при полумаксимальном связывании, которые отражают соответствующие значения KD. Значения измерений в трех параллельных экспериментах нанесены на график в виде гиперболических кривых и в виде S-образных кривых, чтобы продемонстрировать надлежащие диапазоны концентрации от минимального до оптимального связывания.

Значения, приведенные в табл. 3, получены из двух независимых экспериментов на основе конструкции биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3). Исследование на клетках с применением Scatchard подтвердило, что значения аффинности конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) по изобретению к ДПБЗ (DLL3) человека и к ДПБЗ (DLL3) макака находятся в субнаномолярном диапазоне и представлены с небольшим межвидовым яванца/человека зазором аффинности около 1.

Таблица 3

Значения аффинности (KD) конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3), определенные в исследовании на клетках с применением Scatchard, с вычисленным зазором аффинности KD ДПБЗ (DLL3) макака/KD ДПБЗ (DLL3) человека. Конструкции антител анализировали в двух независимых экспериментах, каждый из которых проводили в виде трех параллельных экспериментов

Биспецифическая конструкция антитела против DLL3 x CD3	Аффинность к hu DLL3 в исследовании на клетках [нМ]	Аффинность к mac DLL3 в исследовании на клетках [нМ]	Зазор аффинности KD mac/KD hu
DLL3-4	0,39	0,24	0,6
DLL3-5	0,33	0,22	0,7
DLL3-6	0,33	0,23	0,7
DLL3-7	0,21	0,33	1,6
DLL3-8	0,18	0,34	1,9
DLL3-9	0,30	0,49	1,6
DLL3-10	0,37	0,32	0,8
DLL3-13	0,24	0,29	1,2
DLL3-14	0,53	0,51	1,0
DLL3-15	0,25	0,50	2,0

Пример 5.

Биспецифическое связывание и межвидовая перекрестная реактивность.

Для подтверждения связывания с ДПБЗ (DLL3) и СДЗ (CD3) человека и ДПБЗ (DLL3) и СДЗ (CD3) яванца конструкции биспецифического антитела по изобретению тестируют при помощи проточной цитометрии с применением:

клеток СНО, трансфектированных ДПБЗ (DLL3) человека, с искусственной изоформой ДПБЗ (DLL3) человека (характеризующейся точечными мутациями F172C и L218P) и с ДПБЗ (DLL3) макака соответственно;

ДПБЗ (DLL3) человека-положительной линии клеток карциномы легкого человека SHP-77;

экспрессирующей СДЗ (CD3) клеточной линии Т-клеточного лейкоза человека HPB-all (DSMZ, Braunschweig, ACC483) и экспрессирующей СДЗ (CD3) яванского макака Т-клеточной линии LnPx 4119.

Для проточной цитометрии 200000 клеток соответствующих клеточных линий инкубируют в течение 60 мин при 4°C с 50 мкл очищенной конструкции биспецифического антитела в концентрации 5 мкг/мл. Клетки дважды промывают ФСБ (PBS)/2% ФТС (FCS) и затем инкубируют с самостоятельно полученным мышинным антителом (2 мкг/мл), специфическим в отношении СДЗ (CD3)-связывающей части конструкций биспецифических антител, в течение 30 мин при 4°C. После промывания связанные мышинные антитела обнаруживают при помощи козьего анти-мышинного Fcγ-ФЭ (1:100) в течение 30 мин при 4°C. Образцы анализируют при помощи проточной цитометрии. В качестве отрицательного контроля применяют нетрансфектированные клетки СНО.

Результаты проиллюстрированы на фиг. 3. Конструкции биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) по изобретению окрашивают клетки СНО, трансфектированные ДПБЗ (DLL3) человека, искусственной изоформой ДПБЗ (DLL3) и ДПБЗ (DLL3) яванца, а также окрашивают ДПБЗ (DLL3) человека-положительную клеточную линию карциномы легкого человека SHP-77 (в которой присутствует естественная экспрессия). Кроме того, экспрессирующие СДЗ (CD3) линии Т-клеток были распознаны конструкциями биспецифических антител. Дополнительно, не наблюдалось окрашивания клеток отрицательного контроля (нетрансфектированных СНО, данные показаны в Примере 6).

Пример 6.

Подтверждение отсутствия связывания с паралогами человека.

Паралоги ДПБЗ (DLL3) человека DLL1 и DLL4 стабильно трансфицируют в клетки CHO. Последовательности паралога, применяемые в данном примере, идентифицированы в перечне последовательностей (SEQ ID NO: 283 и 284). Экспрессию белка подтверждают в анализах FACS при помощи антител, специфичных для соответствующих паралога: в случае DLL4 антитела представляют собой антитела против DLL1 человека MAB1818 (R&D; 5 мкг/мл) и антитела против DLL4 человека MAB1506 (R&D; 5 мкг/мл).

Анализ методом проточной цитометрии проводят, как описано в Примере 5, за исключением того, что связанные мышиные антитела обнаруживают при помощи козьего антимишиного ФИТЦ (FITC) (1:100). Результаты представлены на фиг. 4. Анализ подтвердил, что ни одна из конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) по изобретению не реагирует перекрестно с паралогами ДПБЗ (DLL3) человека DLL1 и DLL4.

Пример 7.

Идентичность зародышевой линии человека.

С целью анализа идентичности/сходства последовательности конструкций антител с генами зародышевой линии антител человека, связывающие домены ДПБЗ (DLL3) по изобретению были выровнены следующим образом: полноразмерный VL, содержащий все CDR, был выровнен; полноразмерный VH, содержащий CDR 1 и 2, но исключая CDR3, был выровнен по отношению к генам зародышевой линии антител человека (Vbase). Более подробную информацию можно найти в описании данной заявки. Результаты приведены в табл. 4.

Таблица 4

Идентичность VH и VL зародышевой линии человека

Конструкция биспецифического антитела против DLL3 x CD3	% идентичности зародышевой линии человека [VH/VL]
DLL3-4	96,9/93,3
DLL3-5	96,9/96,6
DLL3-6	96,9/96,6
DLL3-7	93,9/96,6
DLL3-8	94,8/96,6
DLL3-9	96,9/95,5
DLL3-10	91,9/95,5
DLL3-13	95,9/95,7
DLL3-14	94,9/94,6
DLL3-15	93,9/94,6

Пример 8.

Цитотоксическая активность.

Активность конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) по изобретению с точки зрения перенацеливания эффекторных Т-клеток против экспрессирующих ДПБЗ (DLL3) клеток-мишеней анализировали в пяти анализах цитотоксичности *in vitro*:

Активность конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) с точки зрения перенацеливания стимулированных CD8⁺ эффекторных Т-клеток человека против трансфектированных ДПБЗ (DLL3) человека клеток CHO была измерена в 18-часовом анализе высвобождения хрома-51.

Активность конструкций биспецифических антител ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) с точки зрения перенацеливания стимулированных CD8⁺ эффекторных Т-клеток человека против ДПБЗ (DLL3)-положительной клеточной линии карциномы легкого человека SHP-77 была измерена в 18-часовом анализе высвобождения хрома-51.

Эффективность конструкций биспецифических антител ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) с точки зрения перенацеливания Т-клеток в нестимулированных РВМС человека против трансфектированных ДПБЗ (DLL3) человека клеток CHO измеряли в 48-часовом анализе цитотоксичности на основе FACS.

Эффективность конструкций биспецифических антител ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) с точки зрения перенацеливания Т-клеток в нестимулированных РВМС человека против ДПБЗ (DLL3)-положительной клеточной линии человека SHP-77 измеряли в 48-часовом анализе цитотоксичности на основе FACS.

Для подтверждения того, что конструкции биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) с перекрестной реактивностью способны перенацеливать Т-клетки макака против трансфектированных ДПБЗ (DLL3) макака клеток CHO, проводили 48-часовой анализ цитотоксичности на основе FACS с применением линии Т-клеток макака в качестве эффекторных Т-клеток.

Пример 8.1.

Анализ высвобождения хрома с применением стимулированных Т-клеток человека.

Стимулированные Т-клетки, обогащенные CD8⁺ Т-клетками, получают, как описано ниже. Чашку Петри (диаметр 145 мм, Greiner bio-one GmbH, Кремс-мюнстер) покрывают коммерчески доступным анти-CD3 (CD3)-специфическим антителом (ОКТ3, Orthoclone) в конечной концентрации 1 мкг/мл в течение 1 ч при 37°C. Несвязанный белок удаляют одностадийным промыванием ФСБ (PBS). 3-5×10⁷ МКПК (РВМС) человека помещают на предварительно покрытую чашку Петри в 120 мл RPMI 1640 со стабилизированным глутамином/10% ФТС (FCS)/IL-2 20 Ед/мл (Proleukin®, Chiron) и стимулируют в течение 2 дней. На третий день клетки собирают и промывают один раз RPMI 1640. IL-2 добавляют до конечной концентрации 20 Ед/мл и клетки снова культивируют в течение одного дня в той же среде для культивирования клеток, что указана выше. CD8⁺ цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ (CTL)) обогащают путем истощения CD4⁺ Т-клеток и CD56⁺ НК-клеток с применением Dynal-Beads в соответствии с протоколом производителя.

Трансфектированные ДПБЗ (DLL3) яванца или ДПБЗ (DLL3) человека клетки-мишени СНО дважды промывают ФСБ (PBS) и маркируют 11,1 МБк ⁵¹Cr в конечном объеме 100 мкл RPMI с 50% ФТС(FCS) в течение 60 мин при 37°C. После этого меченые клетки-мишени промывают 3 раза по 5 мл RPMI и затем используют в анализе цитотоксичности. Анализ проводят на 96-луночной планшете в общем объеме 200 мкл RPMI с добавками, с соотношением Э:М (Э:М) 10:1. Применяют начальную концентрацию 0,01-1 мкг/мл очищенной конструкции биспецифического антитела и трехкратные разведения. Время инкубации для анализа составляет 18 ч. Цитотоксичность определяют как относительные значения высвобожденного хрома в супернатанте относительно разности максимального лизиса (добавление Тритона-X) и спонтанного лизиса (без эффекторных клеток). Все измерения проводят в параллельных экспериментах. Активность хрома в супернатантах измеряют на гамма-счетчике Wizard 3" (Perkin Elmer Life Sciences GmbH, Кельн, Германия). Анализ результатов выполняют при помощи Prism 5 для Windows (версия 5.0, GraphPad Software Inc., Сан-Диего, штат Калифорния, США). Значения EC₅₀, вычисленные программой анализа на основе сигмоидальных кривых дозы-реакции, используют для сравнения цитотоксической активности.

Пример 8.2.

Эффективность перенацеливания стимулированных эффекторных Т-клеток человека против трансфектированных ДПБЗ (DLL3) человека клеток СНО.

Цитотоксическую активность конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3) в соответствии с изобретением изучали в анализе цитотоксичности с высвобождением хрома-51 (⁵¹Cr) с применением трансфектированных ДПБЗ (DLL3) человека клеток СНО в качестве клеток-мишеней и стимулированных CD8⁺ Т-клеток человека в качестве эффекторных клеток. Эксперимент проводили, как описано в Примере 8.1.

Результаты приведены в табл. 5. Конструкции биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3) продемонстрировали очень высокую цитотоксическую активность против трансфектированных ДПБЗ (DLL3) человека клеток СНО в диапазоне однозначных пикомолярных значений.

Таблица 5

Значения EC₅₀ [пМ] конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3), изученных в анализе цитотоксичности с высвобождением хрома-51 (⁵¹Cr) с применением трансфектированных ДПБЗ (DLL3) человека клеток СНО в качестве клеток-мишеней и стимулированных CD8 Т-клеток человека в качестве эффекторных клеток

Конструкция биспецифического антитела против DLL3 x CD3	EC50 [пМ]
DLL3-4	3,8
DLL3-5	4,2
DLL3-6	2,1
DLL3-7	2,2
DLL3-8	1,2
DLL3-9	1,2
DLL3-10	1,4
DLL3-13	1,8
DLL3-14	5,4
DLL3-15	9,8

Пример 8.3.

Активность перенацеливания стимулированных эффекторных Т-клеток человека против ДПБЗ (DLL3)-положительной линии клеток карциномы легкого человека SHP-77

Цитотоксическую активность конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3) изучали в анализе цитотоксичности с высвобождением хрома-51 (⁵¹Cr) с применением ДПБЗ (DLL3)-положительной линии клеток карциномы легкого человека SHP-77 в качестве источника клеток-мишеней и стимулированных CD8⁺ Т-клеток человека в качестве эффекторных клеток. Анализ проводили, как описано в Примере 8.1.

В соответствии с результатами исследований высвобождения хрома-51 с применением стимулированных обогащенных CD8⁺ Т-лимфоцитов человека в качестве эффекторных клеток и трансфектированных ДПБЗ (DLL3) человека клеток CHO в качестве клеток-мишеней, конструкции биспецифических антител против DLB3×CD3 (CD3) по данному изобретению также оказывают выраженное влияние на цитотоксическую активность против клеток-мишеней с естественной экспрессией (см. табл. 6).

В табл. 6 приведены значения EC₅₀ [пМ] конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3) определяли в 18-часовом анализе цитотоксичности с высвобождением хрома-51 (⁵¹Cr) с применением ДПБЗ (DLL3)-положительной линии клеток карциномы легкого человека SHP-77 в качестве источника клеток-мишеней и стимулированных обогащенных CD8 Т-клеток человека в качестве эффекторных клеток.

Строки 1-10: Конструкции антитела в соответствии с изобретением, которые связываются с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка, представленного в SEQ ID NO: 260. (Строки 1-7: Конструкции антитела, связывающиеся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка EGF-3. Строки 8-10: Конструкции антител, связывающиеся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка EGF-4).

Строки 11-14: Конструкции антитела, связывающиеся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка EGF-5/[EGF-6].

Таблица 6

Строка	Конструкция биспецифического антитела против DLL3 x CD3	EC50 [пМ]
1	DLL3-4	27
2	DLL3-5	26
3	DLL3-6	18
4	DLL3-7	23
5	DLL3-8	39
6	DLL3-9	18
7	DLL3-10	31
8	DLL3-13	22
9	DLL3-14	31
10	DLL3-15	36
11	DLL3-18	38
12	DLL3-19	142
13	DLL3-20	171
14	DLL3-21	324

Пример 8.4.

Анализ цитотоксичности на основе СКАФ (FACS) с применением нестимулированных МКПК (PBMC) человека.

Выделение эффекторных клеток.

Мононуклеарные клетки периферической крови человека МКПК (PBMC) получают центрифугированием с градиентом плотности Ficoll из обогащенных лимфоцитами препаратов (лейкоцитарные пленки), побочного продукта банков крови, собирающих кровь для переливания. Лейкоцитарные пленки поставались местным банком крови, и МКПК (PBMC) получали в день сбора крови. После центрифугирования с градиентом плотности Ficoll и тщательного промывания ФСБ (PBS) Dulbecco (Gibco) оставшиеся эритроциты удаляют из МКПК (PBMC) путем инкубации с буфером для лизиса эритроцитов (155 mM NH₄Cl, 10 mM KHCO₃, 100 мкМ ЭДТА). Тромбоциты удаляют с супернатантом при центрифугировании МКПК (PBMC) при 100×g. Оставшиеся лимфоциты в основном включают В- и Т-лимфоциты, ПК (NK)-клетки и моноциты. МКПК (PBMC) содержат в культуре при 37°C/5% CO₂ в среде RPMI (Gibco) с 10% ФТС (FCS) (Gibco).

Истощение CD14⁺ и CD56⁺ клеток.

Для истощения CD14⁺ клеток применяют микрошарики MicroBeads CD14 человека (Miltenyi Biotec, MACS, № 130-050-201), для истощения NK-клеток - микрошарики MicroBeads CD56 человека (MACS, № 130-050-401). МКПК (PBMC) подсчитывают и центрифугируют в течение 10 мин при комнатной температуре и 300×g. Супернатант отбрасывают, а осадок клеток ресуспендируют в буфере для выделения MACS [80 мкл/10⁷ клеток; ФСБ (PBS) (Invitrogen, № 20012-043), 0,5% (об./об.) ФСБ (FBS) (Gibco, № 10270-106), 2 mM ЭДТА (Sigma-Aldrich, № E-6511)]. Добавляют MicroBeads CD14 и MicroBeads CD56 (20 мкл/10⁷ клеток) и инкубируют в течение 15 мин при 4-8°C. Клетки промывают буфером для выделения MACS (1-2 мл/10⁷ клеток). После центрифугирования (см. выше) супернатант отбрасывают и клетки ресуспендируют в буфере для выделения MACS (500 мкл/10⁸ клеток). Затем CD14/CD56 отрицательные клетки выделяют с применением колонок LS (Miltenyi Biotec, № 130-042-401). PBMC без клеток

CD14⁺/CD56⁺ культивируют в полной среде RPMI, т.е. RPMI1640 (Biochrom AG, № FG1215), содержащей 10% ФТС (FBS) (Biochrom AG, № S0115), 1× незаменимых аминокислот (Biochrom AG, № K0293), 10 мМ (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты (буфер ГЭПЭС (Hepes)) (Biochrom AG, № L1613), 1 мМ пирувата натрия (Biochrom AG, № L0473) и 100 Ед/мл пенициллина/стрептомицина (Biochrom AG, № A2213) при 37°C в инкубаторе до использования.

Маркировка целевых клеток.

С целью анализа лизиса клеток методом проточной цитометрии применяют флуоресцентный мембранный краситель DiOC₁₈ (DiO) (Molecular Probes, № V22886), чтобы маркировать трансфектированные ДПБЗ (DLL3) человека или ДПБЗ (DLL3) макака клетки CHO в качестве клеток-мишеней и отличить их от эффекторных клеток. Вкратце, клетки собирают, один раз промывают ФСБ (PBS) и их количество доводят до 10⁶ клеток/мл ФСБ (PBS), содержащим 2% (об./об.) ФТС (FBS) и мембранный краситель DiO (5 мкл/10⁶ клеток). После инкубации в течение 3 мин при 37°C клетки дважды промывают полной средой RPMI, и количество клеток доводят до 1,25×10⁵ клеток/мл. Жизнеспособность клеток определяют с применением 0,5% (об./об.) изотонического раствора Эозина G (Roth, № 45380).

Анализ на основе проточной цитометрии.

Этот анализ разработан для количественной оценки лизиса клеток CHO, трансфектированных ДПБЗ (DLL3) человека или ямайца, в присутствии серийных разведений конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3). Равные объемы меченых DiO клеток-мишеней и эффекторных клеток (т.е. МКПК (PBMC) без клеток CD14⁺) смешивают, в результате чего соотношение клеток Э:М составляет 10:1. 160 мкл этой суспензии переносят в каждую лунку 96-луночного планшета. Добавляют 40 мкл серийных разведений конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) и добавляют отрицательную контрольную биспецифическую (конструкция биспецифического антитела на основе СДЗ (CD3), распознающая нерелевантный целевой антиген) или полную среду RPMI в качестве дополнительного отрицательного контроля. Опосредованная биспецифическим антителом цитотоксическая реакция протекает в течение 48 ч в увлажненном инкубаторе, содержащем 7% CO₂. Затем клетки переносят на новый 96-луночный планшет и осуществляют проверку целостности клеточной мембраны мишени путем добавления пропидия йодида (PI) в конечной концентрации 1 мкг/мл. PI представляет собой не проникающий сквозь мембрану краситель, который обычно исключается из жизнеспособных клеток, тогда как мертвые клетки захватывают его и становятся различимыми благодаря флуоресцентной эмиссии.

Измерение образцов проводят проточной цитометрией на приборе СКАФ (FACS) Canto II и анализируют при помощи программного обеспечения FACSDiva (оба производства Becton Dickinson). Клетки-мишени идентифицируют как DiO-положительные клетки. PI-отрицательные клетки-мишени классифицируют как живые клетки-мишени. Процент цитотоксичности вычисляют по следующей формуле:

$$\text{Цитотоксичность [\%]} = \frac{n_{\text{мертвые клетки-мишени}}}{n_{\text{клетки-мишени}}} \times 100$$

где n = количество событий.

С применением программного обеспечения GraphPad Prism 5 (программное обеспечение GraphPad Software, Сан-Диего) на график наносят зависимость процента цитотоксичности от соответствующих концентраций конструкции биспецифического антитела. Кривые зависимости дозы-реакции анализируют при помощи моделей четырехпараметрической логистической регрессии для оценки сигмовидных кривых зависимости дозы-реакции с фиксированным угловым коэффициентом Хилла и вычисляют значения EC₅₀.

Пример 8.5.

Активность перенацеливания нестимулированных МКПК (PBMC) человека против трансфектированных ДПБЗ (DLL3) человека клеток CHO.

Цитотоксическую активность конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) изучали в анализе цитотоксичности на основе СКАФ (FACS) с применением трансфектированных ДПБЗ (DLL3) человека клеток CHO в качестве клеток-мишеней и нестимулированных МКПК (PBMC) человека в качестве эффекторных клеток. Анализ проводили, как описано в Примере 8.4 выше.

Результаты анализов цитотоксичности на основе СКАФ (FACS) с нестимулированными МКПК (PBMC) человека в качестве эффекторных клеток и трансфектированными ДПБЗ (DLL3) человека клетками CHO в качестве мишеней приведены в табл. 7.

В табл. 7 приведены значения EC₅₀ [пМ] конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3), определенные в 48-часовом анализе цитотоксичности на основе СКАФ (FACS) с нестимулированными МКПК (PBMC) человека в качестве эффекторных клеток и клеток CHO, трансфектированных ДПБЗ (DLL3) человека в качестве клеток-мишеней.

Строки 1-10: Конструкции антитела в соответствии с изобретением, которые связываются с эпителием ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка, представленного в SEQ ID NO: 260.

Строки 1-7: Конструкции антитела, связывающиеся с эпителием ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка EGF-3.

Строки 8-10: Конструкции антител, связывающиеся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка EGF-4

Строки 11-14: Конструкции антитела, связывающиеся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка EGF-5/[EGF-6].

Таблица 7

Строка	Конструкция биспецифического антитела против DLL3 x CD3	EC ₅₀ [пМ]
1	DLL3-4	53
2	DLL3-5	36
3	DLL3-6	44
4	DLL3-7	40
5	DLL3-8	43
6	DLL3-9	43
7	DLL3-10	40
8	DLL3-13	116
9	DLL3-14	66
10	DLL3-15	57
11	DLL3-18	169
12	DLL3-19	107
13	DLL3-20	171
14	DLL3-21	85

Как и ожидалось, значения EC₅₀ в целом были выше в анализах цитотоксичности с нестимулированными МКПК (PBMC) в качестве эффекторных клеток по сравнению с анализами цитотоксичности с применением стимулированных CD8⁺ Т-клеток человека (см. Пример 8.2).

Пример 8.6.

Активность перенацеливания нестимулированных PBMC человека против ДПБЗ (DLL3)-положительных клеточной линии карциномы легкого SHP-77.

Дополнительно, цитотоксическую активность конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3) изучали в анализе цитотоксичности на основе FACS с применением ДПБЗ (DLL3) - положительной линии клеток карциномы легкого человека SHP-77 в качестве источника клеток-мишеней и нестимулированных МКПК (PBMC) человека в качестве эффекторных клеток. Анализ проводили, как описано в Примере 8.4 выше. Результаты приведены в табл. 8.

В табл. 8 приведены значения EC₅₀ [пМ] конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3), определенные в 48-часовом анализе цитотоксичности на основе СКАФ (FACS) с нестимулированными МКПК (PBMC) человека в качестве эффекторных клеток и клеточной линии SHP-77 человека в качестве источника клеток-мишеней.

Строки 1-10: Конструкции антитела в соответствии с изобретением, которые связываются с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка, представленного в SEQ ID NO: 260.

Строки 1-7: Конструкции антитела, связывающиеся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка EGF-3.

Строки 8-10: Конструкции антител, связывающиеся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка EGF-4.

Строки 11-14: Конструкции антитела, связывающиеся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка EGF-5/[EGF-6].

Таблица 8

Строка	Конструкция биспецифического антитела против DLL3 x CD3	EC50 [пМ]
1	DLL3-4	44
2	DLL3-5	65
3	DLL3-6	31
4	DLL3-7	30
5	DLL3-8	24
6	DLL3-9	33
7	DLL3-10	32
8	DLL3-13	49
9	DLL3-14	65
10	DLL3-15	66
11	DLL3-18	76
12	DLL3-19	180
13	DLL3-20	1540
14	DLL3-21	770

Пример 8.7.

Активность перенацеливания Т-клеток макака против экспрессирующих ДПБЗ (DLL3) макака клеток CHO.

Наконец, цитотоксическую активность конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3) изучали в анализе цитотоксичности на основе FACS с применением клеток CHO, трансфектированных ДПБЗ (DLL3) макака (яванца), в качестве клеток-мишеней, и линии Т-клеток макака 4119LnPx (Knapp et al., Blood, 95:3256-61 (2000)) в качестве источника эффекторных клеток. Маркировку клеток-мишеней для трансфектированных ДПБЗ (DLL3) макака клеток CHO и анализ цитотоксической активности на основе проточной цитометрии проводили, как описано выше.

Результаты приведены в табл. 9. Т-клетки макака из клеточной линии 4119LnPx были индуцированы для эффективного уничтожения трансфектированных ДПБЗ (DLL3) макака клеток CHO конструкциями биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3) в соответствии с изобретением. Представленные конструкции антител проявили высокую активность в этом анализе со значениями EC₅₀ в диапазоне двузначных пиколярных значения, что подтверждает их высокую активность в системе макака.

В табл. 9 приведены значения EC₅₀ [пМ] конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3), определенные в 48-часовом анализе цитотоксичности на основе СКАФ (FACS) с линией

Т-клеток макака 4119LnPx в качестве эффекторных клеток и клетками CHO, трансфектированными ДПБЗ (DLL3) макака, в качестве клеток-мишеней.

Строки 1-10: Конструкции антитела в соответствии с изобретением, которые связываются с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка, представленного в SEQ ID NO: 260.

Строки 1-7: Конструкции антитела, связывающиеся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка EGF-3.

Строки 8-10: Конструкции антител, связывающиеся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка EGF-4.

Строки 11-14: Конструкции антитела, связывающиеся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка EGF-5/[EGF-6].

Таблица 9

Строка	Конструкция биспецифического антитела против DLL3 x CD3	EC50 [пМ]
1	DLL3-4	36
2	DLL3-5	42
3	DLL3-6	40
4	DLL3-7	101
5	DLL3-8	44

6	DLL3-9	58
7	DLL3-10	42
8	DLL3-13	65
9	DLL3-14	28
10	DLL3-15	32
11	DLL3-18	134
12	DLL3-19	66
13	DLL3-20	231
14	DLL3-21	86

Пример 9.

Превращение мономера в димер после (i) трех циклов замораживания/оттаивания и (ii) 7 дней инкубации в концентрации 250 мкг/мл.

Мономерную конструкцию биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) подвергали воздействию различных стрессовых условий, с последующим анализом методом высокоэффективной ЭХ (SEC), чтобы определить процент первоначально мономерной конструкции антитела, которая превратилась в димерную конструкцию антитела.

(i) 25 мкг мономерной конструкции антитела доводят до концентрации 250 мкг/мл при помощи генерического буфера препарата, после чего замораживают при -80°C в течение 30 мин с последующим оттаиванием в течение 30 мин при комнатной температуре. После трех циклов замораживания/оттаивания содержание димера определяют методом ВЭ-ЭХ (HP-SEC).

(ii) 25 мкг мономерной конструкции антитела доводят до концентрации 250 мкг/мл при помощи генерического буфера препарата, после чего инкубируют при 37°C в течение 7 дней. Содержание димера определяют методом ВЭ-ЭХ (HP-SEC).

Высокоэффективную колонку для ЭХ (SEC) TSK Gel G3000 SWXL (Tosoh, Токио, Япония) подключают к Äkta Purifier 10 FPLC (GE Lifesciences), оснащенной автосемплером A905. Колонку уравнивают, а буфер анализа состоит из 100 мМ КН₂Р₄О₄-200 мМ Na₂SO₄, с коррекцией pH до 6,6. Раствор антитела (25 мкг белка) наносят на уравновешенную колонку и осуществляют элюцию со скоростью потока 0,75 мл/мин при максимальном давлении 7 МПа. Весь прогон контролируют по оптической плотности на длине волны 280, 254 и 210 нм. Анализ проводят путем интеграции пиков сигнала на длине волны 210 нм, зарегистрированных на оценочном листе прогона программным обеспечением Äkta Unicorn. Содержание димера вычисляют путем деления площади пика димера на общую площадь пика мономера плюс димера.

Результаты приведены в табл. 10. Конструкции биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) по изобретению представлены с процентным содержанием димера 0,0% после трех циклов замораживания/оттаивания и с содержанием димера меньше или равно 2% после 7 дней инкубации при 37°C.

Таблица 10

Процент мономерных и димерных конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3), определенный методом высокоэффективной эксклюзионной хроматографии, ВЭ-ЭХ (HP-SEC)

Конструкция биспецифического антитела против DLL3 x CD3	Процент димера после трех циклов замораживания/оттаивания	Процент димера после 7 дней инкубации при 37 °C
DLL3-4	0,7	0,0
DLL3-5	1,5	0,0
DLL3-6	1,3	0,0
DLL3-7	1,2	0,0
DLL3-8	1,5	0,0
DLL3-9	1,8	0,0
DLL3-10	0,6	0,0
DLL3-13	1,6	0,0
DLL3-14	0,4	0,0
DLL3-15	1,2	0,0

Пример 10. Термостабильность.

Температуру агрегации антител определяют следующим образом: 40 мкл раствора конструкции антитела с концентрацией 250 мкг/мл переносят в одноразовую кювету и помещают в устройство динамического рассеяния света Wyatt DynaPro Nanostar (Wyatt). Образец нагревают от 40 до 70°C со скоростью

нагрева 0,5°C/мин с постоянным получением измеренного радиуса. Увеличение радиуса, указывающее на плавление белка и агрегацию, используется программным пакетом, поставляемым с устройством ДРС (DLS), для вычисления температуры агрегации конструкции антитела.

Все протестированные конструкции биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3) по изобретению демонстрируют термическую стабильность с температурами агрегации больше или равно 45°C, как показано в табл. 11. Термическая стабильность группы конструкций антител, связывающихся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), который находится в пределах участка EGF-4 (как представлено в SEQ ID NO: 259) даже составляет больше или равно 50°C, точнее, больше или равно 54°C.

Таблица 11

Термостабильность конструкций биспецифических антител, определенная при помощи ДРС (DLS) (динамическое рассеяние света)

Конструкция биспецифического антитела против DLL3 x CD3	Термостабильность (агрегация по данным DLS, °C)
DLL3-4	59,3
DLL3-5	45,4
DLL3-6	58,8
DLL3-7	58,2
DLL3-8	49,8
DLL3-9	49,6
DLL3-10	52,9
DLL3-13	54,0
DLL3-14	57,0
DLL3-15	56,3

Пример 11.

Стабильность после инкубации в плазме человека в течение 24 ч.

Очищенные конструкции биспецифических антител инкубируют в соотношении 1:5 в пуле плазмы человека при 37°C в течение 96 ч при конечной концентрации 2-20 мкг/мл. После инкубации в плазме конструкции антител сравнивают в анализе высвобождения хрома-51 с применением стимулированных обогащенных CD8⁺ Т-клеток человека и трансфектированных ДПБЗ (DLL3) человека клеток CHO при начальной концентрации 0,01-0,1 мкг/мл с соотношением эффекторных клеток и клеток-мишеней (Э:М) 10:1 (анализ проводят, как описано в Примере 8.1). В качестве контроля включают неинкубированные, недавно размороженные конструкции биспецифических антител.

Результаты приведены в табл. 12; кроме того, типичные результаты для двух конструкций антител, DLL-4 и DLL-14, проиллюстрированы на фиг. 5. Все протестированные конструкции антител демонстрируют в высокой степени благоприятную стабильность в плазме (EC₅₀ плазма/EC₅₀ контроль) меньше или равно 2,5. Группа конструкций антител, связывающихся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), который находится в пределах участка EGF-4 (как представлено в SEQ ID NO: 259), даже продемонстрировала стабильность в плазме меньше или равную 1,5, точнее, меньше или равную 1,1.

Таблица 12

Значения EC_{50} конструкций антител с инкубацией в плазме и без нее и вычисленное значение соотношения плазмы/контроля

Конструкция биспецифического антитела против DLL3 x CD3	EC_{50} [пМ]		Соотношение плазмы/контроля (EC_{50} плазма/ EC_{50} контроль)
	с плазмой	без плазмы	
DLL3-4	3,6	3,8	0,9
DLL3-5	5,4	4,2	1,3
DLL3-6	4,8	2,1	2,3
DLL3-7	2,7	2,2	1,2
DLL3-8	1,0	1,2	0,8
DLL3-9	1,2	1,2	1,0
DLL3-10	2,5	1,4	1,8
DLL3-13	2,0	1,8	1,1
DLL3-14	4,8	5,4	0,9
DLL3-15	7,8	9,8	0,8

Пример 12.

Мутность при концентрации антитела 2500 мкг/мл.

1 мл раствора очищенной конструкции антитела в концентрации 250 мкг/мл концентрируют при помощи модулей спин-концентрации до 2500 мкг/мл. После 16-часового хранения при 5°C мутность раствора антитела определяют по оптической плотности OD340 нм, проводя измерения против генерического буфера препарата.

Результаты приведены в табл. 13. Все тестируемые конструкции антител демонстрируют в высокой степени благоприятную мутность, меньшую или равную 0,1, за исключением одной конструкции с мутностью, несколько превышающей 0,1. Мутность группы конструкций антител, связывающихся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), который находится в пределах участка EGF-4 (как представлено в SEQ ID NO: 259), даже меньше или равна 0,08.

Таблица 13

Мутность конструкций антител после концентрирования до 2,5 мг/мл в течение ночи

Конструкция биспецифического антитела против DLL3 x CD3	Мутность при 2500 мкг/мл [OD340]
DLL3-4	0,073
DLL3-5	0,106
DLL3-6	0,080
DLL3-7	0,089
DLL3-8	0,069
DLL3-9	0,085
DLL3-10	0,091
DLL3-13	0,075
DLL3-14	0,073
DLL3-15	0,078

Пример 13.

Гомогенность белка по данным высокоэффективной катионообменной хроматографии.

Гомогенность белка для конструкций антител по изобретению анализируют при помощи высокоэффективной катионообменной хроматографии, КОХ (СІЕХ).

50 мкг мономера конструкции антитела разбавляют 50 мл буфера связывания А (20 мМ дигидрофосфата натрия, 30 мМ NaCl, 0,01% октаната натрия, pH 5,5), и 40 мл полученного раствора наносят на колонку BioPro SP-F 1 мл (УМС, Германия), подключенную к устройству Akta Micro FPLC (GE Healthcare, Германия). После связывания образца проводят стадию промывания дополнительным количеством буфера связывания. Для элюации белка применяют линейный понижающий градиент соли с применением буфера В (20 мМ дигидрофосфата натрия, 1000 мМ NaCl, 0,01% октаната натрия, pH 5,5) до 50% буфера В в течение 10 объемов колонки. Весь прогон контролируют по оптической плотности на длине волны 280, 254 и 210 нм. Анализ проводят путем интеграции пиков сигнала на длине волны

280 нм, зарегистрированных на оценочном листе прогона программным обеспечением Äkta Unicorn.

Результаты приведены в табл. 14. Все тестируемые конструкции антител демонстрируют в высокой степени благоприятную гомогенность больше или равно 80% (площадь под кривой (= AUC) основного пика). Гомогенность группы конструкций антител, связывающихся с эпитопом ДПБЗ (DLL3), который находится в пределах участка EGF-3 (как представлено в SEQ ID NO: 258), даже составляет больше или равна 90%.

Таблица 14

Гомогенность белка для конструкций антител (% AUC основного пика)	
Конструкция биспецифического антитела против DLL3 x CD3	Гомогенность белка % AUC основного пика
DLL3-4	96
DLL3-5	100
DLL3-6	95
DLL3-7	93
DLL3-8	100
DLL3-9	93
DLL3-10	90
DLL3-13	100
DLL3-14	100
DLL3-15	83

Пример 14.

Гидрофобность поверхности, измеренная методом ХГВ (НІС) бутил.

Гидрофобность поверхности конструкций биспецифических антител по изобретению тестировали методом хроматографии с гидрофобным взаимодействием, ХГВ (НІС) в проточном режиме.

50 мкг мономера конструкции антитела разбавляют генерическим буфером препарата до конечного объема 500 мкл (10 мМ лимонной кислоты, 75 мМ лизина HCl, 4% трегалозы, pH 7,0) и наносят на колонку с бутилсефарозой FF 1 мл (GE Healthcare, Германия), подключенную к системе FPLC Äkta Purifier (GE Healthcare, Германия). Весь прогон контролируют по оптической плотности на длине волны 280, 254 и 210 нм. Анализ проводят путем интеграции пиков сигнала на длине волны 280 нм, зарегистрированных на оценочном листе прогона программным обеспечением Äkta Unicorn. Поведение при элюации оценивают путем сравнения площади и скорости нарастания и снижения сигнала белка, что указывает на прочность взаимодействия химеры ViTE альбумина с матрицей.

Конструкции антител демонстрировали благоприятное поведение при элюации, которая в основном была быстрой и полной.

Пример 15.

Зазор активности между мономерной и димерной изоформами конструкций биспецифических антител.

С целью определения разницы в цитотоксической активности между мономерной и димерной изоформами отдельных конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3) (которая называется зазором активности), проводили 18-часовое исследование цитотоксичности с высвобождением хрома-51, как описано выше (Пример 8.1) с мономером и димером очищенного биспецифического антитела. Эффекторные клетки представляют собой стимулированные обогащенные CD8⁺ Т-клетки человека. Клетки-мишени представляют собой трансфектированные hu ДПБЗ (DLL3) клетки CHO. Соотношение эффекторных клеток и клеток-мишеней (Э:М) составляет 10:1. Зазор активности вычисляют как соотношение между значениями EC₅₀.

Результаты приведены в табл. 15; кроме того, типичные результаты для двух конструкций антител, DLL-4 и DLL-14, проиллюстрированы на фиг. 6. Значения зазора активности для тестируемых конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3) составляют от 0,2 до 1,0. Следовательно, не существует значительно более активного димера по сравнению с соответствующим мономером.

Таблица 15

Зазор активности между мономерной и димерной изоформами			
Конструкция биспецифического антитела против DLL3 x CD3	EC ₅₀ мономера [нМ]	EC ₅₀ димера [нМ]	Соотношение EC ₅₀ мономера/EC ₅₀ димера
DLL3-4	3,8	5,7	0,7
DLL3-5	4,2	11	0,4
DLL3-6	2,1	13	0,2
DLL3-7	2,2	4,2	0,5
DLL3-8	1,2	3,4	0,4
DLL3-9	1,2	3,8	0,3
DLL3-10	1,4	1,4	1,0
DLL3-13	1,8	3,0	0,6
DLL3-14	5,4	8,7	0,6
DLL3-15	9,8	25	0,4

Пример 16.

Анализ интернализации *in vitro*.

Были измерены изменения в активности конструкции биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) как функция предварительной инкубации конструкции на клетках-мишенях в отсутствие

Т-клеток. Если конструкция антитела интернализуется, она должна подвергаться лизосомальной деградации. Эффективная концентрация должна снижаться со временем, а, следовательно, кажущаяся активность также должна уменьшаться. Эффект наблюдается с другими мишенями, для которых это является известным явлением, но для конструкции биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) такого эффекта не наблюдалось. Анализ проводят следующим образом.

Т-клетки подсчитывают и разбавляют до концентрации 1×10^5 /мл в аналитических средах. Клетки SHP-77 подсчитывают и высевают в количестве 2500 клеток/лунку, кнл (срw). Конструкцию антитела разбавляют последовательно 1:2 (при помощи Bravo), начиная с концентрации 100 нМ. Конструкцию антитела добавляют на планшеты для анализа культуры таким образом, чтобы перед добавлением Т-клеток проходило 0, 1 или 2 ч инкубации. Затем Т-клетки высевают с плотностью 25000 кнл (срw) и реакционную смесь инкубируют в течение 48 ч при 37°C. Выживаемость клеток SHP-77 определяют при помощи системы Steady-Glo® (25 мкл/лунку). Результаты проиллюстрированы на фиг. 7 и не наводят на мысль о существенной интернализации конструкции антитела против ДПБЗ (DLL3)-4×СДЗ (CD3) (12С).

Пример 17.

Исследование выброса.

Для того чтобы проанализировать, будет ли цитотоксическая активность конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) по данному изобретению значительно ослаблена присутствием выброса DLL, был проведен следующий анализ: Т-клетки подсчитывают и разбавляют до концентрации 1×10^5 /мл в аналитических средах. Клетки SHP-77 подсчитывают и разбавляют до концентрации $1,25 \times 10^5$ /мл в аналитических средах с возрастающими концентрациями растворимого ДПБЗ (DLL3) от 0,3 до 12 нМ. Клетки SHP-77 высевают в количестве 2500 клеток/лунку, кнл (срw) и Т-клетки добавляют в количестве 25000 кнл (срw). Конструкцию антитела разбавляют последовательно 1:2 (при помощи Bravo) и добавляют к анализу культуры (при помощи Bravo). Инкубацию проводят в течение 48 ч при 37°C. Выживаемость клеток SHP-77 анализируют при помощи системы Steady-Glo® (25 мкл/лунку).

Пример 18.

Исследование эффективности на ксенотрансплантате мыши.

Противоопухолевую активность конструкции биспецифического антитела против HLE ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) (SEQ ID NO: 517) тестировали на модели самок мышей NOD/SCID, которым подкожно вводили в первый день исследования 5×10^6 клеток ДПБЗ (DLL3) человека-положительного SCLC (SHP-77 luc) или 5×10^6 клеток ДПБЗ (DLL3) человека-положительной меланомы (WM 266-4). Эффекторные клетки (2×10^7 разведенных *in vitro* и живых активизированных СДЗ (CD3)⁺ Т-клеток человека) вводят внутривенно на 12 день. Лечение начинают на 16 день (WM 266-4) или на 18 день (SHP-77 luc). Конструкцию антитела вводят четыре раза каждые пять дней (к5д×4) при помощи внутривенных инъекций болюса. Группы лечения были следующими:

Модель SCLC (SHP-77 luc)/7 мышей на группу.

Группа, получавшая основу с Т-клетками:

конструкция биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3): 10 мг/кг на введение.

Модель меланомы (WM266-4)/9 мышей на группу.

Группа, получавшая основу с Т-клетками:

конструкция биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3): 10 мг/кг на введение,

конструкция биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3): 2 мг/кг на введение.

Опухоли измеряют штангенциркулем во время исследования, а результаты оценивают путем межгруппового сравнения объема опухоли, TV. Подавление роста опухоли Т/С [%] в х день определяют путем вычисления объема опухоли в форме Т/С (%) = 100 × (медиана TV анализируемой группы)/(медиана TV контрольной группы); вычисленные значения приведены в табл. 16.

Таблица 16

Значения Т/С в исследованиях ксенотрансплантата мыши с применением клеток SHP-77 luc и клеток WM266-4

День исследования	Т/С (%)	Т/С (%)	Т/С (%)
	Модель SHP-77, 10 мг/кг	Модель WM266-4, 10 мг/кг	Модель WM266-4, 2 мг/кг
15	103	101	101
17	92	76	77
20	64	42	47
23	50	36	38
26	52	31	35
29	34	46	40
31	33	56	55
33	30	64	75
36	24	н.о	н.о
38	19	н.о	н.о

Результаты дополнительно проиллюстрированы на фиг. 8А и 8В. Значительное подавление роста опухоли было продемонстрировано как на обеих моделях опухолей, так и при обоих уровнях доз, 2 и 10 мг/кг.

Пример 19.

Исследование поисковой токсикологии у яванца.

Исследование поисковой токсикологии проводилось с применением конструкции биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) без удлинения периода полувыведения (SEQ ID NO: 554). Трех самкам яванского макака вводят дозы при помощи непрерывной в/в инфузии в течение 16 дней (5, 15 и 45 мкг/кг/сутки в течение 3 дней каждая, после чего следует 100 мкг/кг/сутки в течение 7 дней). Не наблюдалось клинических признаков, связанных с исследуемым продуктом, изменений температуры тела, потребления пищи или массы тела.

В соответствии с ожиданиями в отношении фармакологии конструкции биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) циркулирующие популяции Т-лимфоцитов (общие Т-лимфоциты, Т-хелперные и Т-цитотоксические лимфоциты, NK-клетки, В-лимфоциты и CD25⁺ активированные Т-лимфоциты) были снижены в первый день введения и оставались сниженными на протяжении всего исследования у всех животных. Уровни маркеров активации (CD69 и CD25 на активированных Т-клетках) были повышены в 1 день, но не в более поздних временных точках исследования.

Резюмируя, конструкция биспецифического антитела против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) очень хорошо переносилась даже при самой высокой из изученных доз (100 мкг/кг/сутки, более чем 300 × EC₅₀).

Пример 20.

Исследования фармакокинетики, ФК, у яванца.

Исследование ФК у яванца проводили на наивных самцах яванского макака. Три различные слитые с альбумином конструкции биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×СДЗ (CD3) (I2C) (ДПБЗ (DLL3)-4, ДПБЗ (DLL3)-6 и ДПБЗ (DLL3)-14) вводят в/в в виде однократного болюса с концентрацией 12 мкг/кг. Для каждой из молекул используют группу из двух животных.

Отдельное исследование ФК у яванца проводилось в тех же условиях, но с ДПБЗ (DLL3)-4 в разных химерных версиях с Fc.

Образцы крови отбирают до введения дозы и через 0,05, 0,5, 1, 4, 8, 24, 48, 72, 120, 168, 240 и 336 ч после введения дозы. Сыворотку готовят для определения концентрации молекул в сыворотке при помощи иммунологического анализа. Анализ проводят путем захвата конструкций антител через их целевой фрагмент, в то время как для обнаружения применяют антитело, направленное против СДЗ (CD3)-связывающей части конструкции. Профили концентрации-времени в сыворотке используют для определения параметров ФК. Фармакокинетические параметры определяют с применением стандартных методов некомпартментального анализа (NCA). Оценивают следующие параметры ФК: AUC_{inf}

(площадь под кривой зависимости концентрации в сыворотке от времени), V_{ss} (объем распределения в стационарной фазе), CL (системный клиренс) и терминальный $t_{1/2}$ (период полувыведения). Для всех конструкций антител уровни в сыворотке после введения поддавались количественной оценке во всех временных точках у всех животных. Клинических признаков у любого из леченых животных не наблюдалось.

Фармакокинетика исследуемых конструкций антител проиллюстрирована на фиг. 9, а параметры ФК суммированы как среднее значение для $n=2$ в табл. 17.

Слитые с альбумином конструкции продемонстрировали благоприятный профиль ФК, соответствующий схеме введения один или два раза в неделю у пациента-человека. Еще более благоприятный профиль ФК, поддерживающий введение один раз в неделю или даже введение один раз в две недели, наблюдался для химерной конструкции с Fc (scFc).

Таблица 17

Фармакокинетические параметры вариантов HLE для конструкций биспецифических антител против ДПБЗ (DLL3)×CD3 (CD3) у яванского макака

Конструкция антитела	AUC _{inf} [нг * час/мл]	V _{ss} [мл/кг]	CL [мл/час/кг]	t _{1/2} [час]
DLL3-4 x I2C HALB	20669	70	0,58	93
DLL3-6 x I2C HALB	20228	67	0,59	103
DLL3-14 x I2C HALB	21597	107	0,55	154
DLL3-4 x I2C scFc	29746	118	0,40	213
DLL3-4 (cc) x I2C scFc	24769	144	0,48	234
DLL3-4 x I2C гетеро Fc	14639	166	0,82	173

Таблица 18

Перечень последовательностей

SEQ ID NO	Эпитоп DLL3	Обозначение	Формат/источник	Аминокислотная последовательность
1		DLL3-1	VE CDR1	DYGIH
2		DLL3-1	VE CDR2	VISYHGSKNYARSVKG
3		DLL3-1	VE CDR3	EIPFGMDV
4		DLL3-1	VL CDR1	RSSQSLHSDGYNYLD
5		DLL3-1	VL CDR2	LGSNRAS
6		DLL3-1	VL CDR3	MQALQTPLT
7		DLL3-1	VE	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFS DYGIHWVRQAPGKGLEWVAVISYHGSKNY ARSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAREIPFGMDVWGQCTTVTVSS
8		DLL3-1	VL	DIIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL HSDGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR ASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAE DVGVIYCMQALQTPLTFGGGTKVDIK
9	N- конц.	DLL3-1	scFv	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFS DYGIHWVRQAPGKGLEWVAVISYHGSKNY ARSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAREIPFGMDVWGQCTTVTVSSGGG GGGGGGGGGGSDIIVMTQTPLSLPVTPGEP ASISCRSSQSLLES DGYNYLDWYLQKPGQS PQLLIYLGSRASGVPDRFSGSGSGTDFTLT TISRVEAE DVGVIYCMQALQTPLTFGGGTK VDIK
10		DLL3-1 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFS DYGIHWVRQAPGKGLEWVAVISYHGSKNY ARSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAREIPFGMDVWGQCTTVTVSSGGG GGGGGGGGGGSDIIVMTQTPLSLPVTPGEP ASISCRSSQSLLES DGYNYLDWYLQKPGQS PQLLIYLGSRASGVPDRFSGSGSGTDFTLT TISRVEAE DVGVIYCMQALQTPLTFGGGTK VDIKSGGGSEVQLVESGCGCLVQPGCSLKL SCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVAR IRSKYNNYATYADSVKDRFTISRDSKNT AYLQMNKLTEDTAVYYCVRHGF GNSYIS YWAYWGQGTIVTVSSGGGGGGGGGGGG QTVVTQEPFLIVSPGGTVTLTCSSTGAVT SGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTRFLAPGT PARFSGSLLGGKAALTLGVPQPEAEYFC VIWYSNRWVFGGGTKITVI
11		DLL3-2	VE CDR1	GYVMH
12		DLL3-2	VE CDR2	WINPNSGDTNYAQKFGG
13		DLL3-2	VE CDR3	DANIAALDAFEI

14		DLL3-2	VI, CDR1	RASQSTSSYIN
15		DLL3-2	VL CDR2	AASSLQS
16		DLL3-2	VL CDR3	QQSYSTPLT
17		DLL3-2	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT GYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNY AQKFRQGRVTMTRDTSISTAYMELSRITSD TAVYYCARDANTAATDAFRITWGQTMVTVS S
18		DLL3-2	VI,	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSSIS SYLNWYQQKPKGAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ SYSTPLTFGGGTKVEIK
19	N- конц.	DLL3-2	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT GYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNY AQKFRQGRVTMTRDTSISTAYMELSRITSD TAVYYCARDANIAALDAFEIWGQTMVTVS SGGGSGGGSGGGSSDIQMTQSPSSLSAS VGDRTITCRASQSSSYLNWYQQKPKGAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKV EIK
20		DLL3-2 x I2C	биспециф ическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT GYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNY AQKFRQGRVTMTRDTSISTAYMELSRITSD TAVYYCARDANIAALDAFEIWGQTMVTVS SGGGSGGGSGGGSSDIQMTQSPSSLSAS VGDRTITCRASQSSSYLNWYQQKPKGAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKV ETKSGGGSEVQIVFSCCGIVCPGGSILIS CAASGFTFNKYAYNWRQAPGKGLEWVARI RSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDCKNTA YLNQMNKLTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSY WAYWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGGGQ TVVTQEPSTVSPGGIVILTCGSSGTAVTS GNYPNWVQKPKGAPRGIIGGTFIAPGT? ARFSGSLGGKAALCLSGVQPEDEAEYYCV LWYSNRWVFGGGTKLTVL
21		DLL3-3	VH CDR1	SYGMH
22		DLL3-3	VH CDR2	VISYHGRDTYYARSVKG
23		DLL3-3	VH CDR3	DGATVTSYYSYGMV
24		DLL3-3	VL CDR1	RASQG1SNYLA
25		DLL3-3	VL CDR2	LASSLQS
26		DLL3-3	VI, CDR3	QQYNFYPTT
27		DLL3-3	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS SYGMHWRQAPGKGLEWVAVISYHGRDTYY ARSVKGRFTISRDNKNTIYIMNSIARFD

				TAVYYCARDGATVTSYYSYSGYDVGQGTIV TVSSK
28		DLL3-3	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGIS NYLAWFQQKPGKAPKSLIYLASSLQSGVPS KFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YNYFPFTFGPGTKVDIK
29	EGF-1	DLL3-3	scFv	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS SYGMHWVRQAPGKGLVWVAVISYHGRDTYY ARSVKGRFTISRDNKNTLYLHMNSLRAED TAVYYCARDGATVTSYYSYSGYDVGQGTIV TVSSGGGGSGGGGGGGSDIQMTQSPSSL SASVGRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPG KAPKSLIYLASSLQSGVPSKFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQYNYFPFTFGPG TKVDIK
30		DLL3-3 x I2C	биспециф ическая молекула	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS SYGMHWVRQAPGKGLVWVAVISYHGRDTYY ARSVKGRFTISRDNKNTLYLHMNSLRAED TAVYYCARDGATVTSYYSYSGYDVGQGTIV TVSSGGGGSGGGGGGGSDIQMTQSPSSL SASVGRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPG KAPKSLIYLASSLQSGVPSKFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQYNYFPFTFGPG TKVDIKSGCCSEVQLVESCCGLVQPCGSL KLSCAASGFTFNKYAMNHWVRQAPGKGLVW ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSK NIAYLQMNKTEEDTAVYYCVRHGNFGNSY ISYWAYWGGGILVTVSSGGGGSGGGGGGG GSQTVVTEPEPLTVSPGGTTLTCGSSGTA VTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAP GTPARFSGSLLGKAAALTLGSGVQPEDEAEY YCVLWYSNRWVFCGCTKLV
31		DLL3-4	VE CDR1	SYYS
32		DLL3-4	VE CDR2	YVYSGTTNYPNPSLKS
33		DLL3-4	VE CDR3	IAVTGFYFDY
34		DLL3-4	VL CDR1	RASQRVNNNYLA
35		DLL3-4	VL CDR2	GASSRAT
36		DLL3-4	VL CDR3	QQYDRSPLT
37		DLL3-4	VE	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIS SYYSWIRQPPGKGLVWVAVISYHGRDTYY PSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCASIAVTGFYFDYWCQCTLVTVSS
38		DLL3-4	VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERVILSCRASQRVN NNYLAWYQQRPQAPRLLIYGASSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTIISRIFPEDFATYYCQ QYDRSPLTFGGGTKLEIK
39	EGF-3	DLL3-4	scFv	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIS SYYSWIRQPPGKGLVWVAVISYHGRDTYY PSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT

				AVYYCASAVTGFYFDYWGQGTILVTVSSGG GGSGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLISLSPGE RVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPQQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKLEI K
40		DLL3-4 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGRTNYY PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCASAVTGFYFDYWGQGTILVTVSSGG GGSGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLISLSPGE RVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPQQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKLEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNXYAMNWVRQAPGKLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSYWA YWGQGTILVTVSSGGGGSGGGSGGGGQTV VTQEPSSLIVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGN YPKVVQQKPGQAPRGLIGTKFLAPGTTPAR FSGSLLGGKAALTLTSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGKTLTVL
41		DLL3-5	VH CDR1	SYIYS
42		DLL3-5	VH CDR2	YIYYSGRINYYPSLKS
43		DLL3-5	VH CDR3	IAVAGFFFDY
44		DLL3-5	VL CDR1	RASQSVNKNYLA
45		DLL3-5	VL CDR2	GASSRAT
46		DLL3-5	VL CDR3	QQYDRSPLT
47		DLL3-5	VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGRTNYY PSLKSRVTISIDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIIVAGFFFDYWGQGTILVTVSS
48		DLL3-5	VI	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVN KNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QQYDRSPLTFGGGTKLEIK
49	EGF-3	DLL3-5	scFv	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGRTNYY PSLKSRVTISIDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIIVAGFFFDYWGQGTILVTVSSGG GGSGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLISLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKLEI K
50		DLL3-5 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGRTNYY PSLKSRVTISIDTSKNQFSLKLSVTAADT

				AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGTLVTVSSGG GGSGGGGGGGSEIVLTQSPGTLISLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKVEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKDRFTSRDDSKNTAYL QMNNLKTELTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA YWGQGTLVTVSSGGGGGGGGGGGGQIV VTQEPSTLVSPGGTIVLTCCSSSTGAVISGN YPNWWQQKPGQAPRGLIGGIKFLA?GTIPAR FSGSLGGKAALTLISGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVL
51		DLL3-6	VE CDR1	SFYWS
52		DLL3-6	VE CDR2	YIYYSGTTNYPNPSLKS
53		DLL3-6	VE CDR3	IAVAGFFFDY
54		DLL3-6	VL CDR1	RASQSVNKNYLA
55		DLL3-6	VL CDR2	GASSRAT
56		DLL3-6	VL CDR3	QQYDRSPLT
57		DLL3-6	VE	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYPN PSLKSrvTISVDTskNQfSLKLSsvTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGTLVTVSS
58		DLL3-6	VL	RIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVN KNYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QYDRSPLTFGGGTKVEIK
59	EGF-3	DLL3-6	scFv	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYPN PSLKSrvTISVDTskNQfSLKLSsvTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGTLVTVSSGG GGSGGGGGGGSEIVLTQSPGTLISLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKVEI K
60		DLL3-6 x 12C	биспециф ическая молекула	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYPN PSLKSrvTISVDTskNQfSLKLSsvTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGTLVTVSSGG GGSGGGGGGGSEIVLTQSPGTLISLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKVEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKDRFTSRDDSKNTAYL QMNNLKTELTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA

				YWGGQTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQIV VTQRFPSITVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTSGN YFNWVQKQPGQAPRGLIGGKFLA?GTIPAR ESGSLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGIKLTVL
61		DLL3-7	VE CDR1	SFYWS
62		DLL3-7	VE CDR2	YIYSGTTNYNPSLKS
63		DLL3-7	VE CDR3	IAVAGFFFDY
64		DLL3-7	VL CDR1	RASQSVNKNYLA
65		DLL3-7	VL CDR2	GASSRAT
66		DLL3-7	VL CDR3	QQYDRSPLT
67		DLL3-7	VE	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGTTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGGQTLVTVSS
68		DLL3-7	VL	EIVLTQSPGTLSTLSPGERATLSCRASQSVN KNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QYDRSPLTFGGGKVEIK
69	EGF-3	DLL3-7	scFv	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGTTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGGQTLVTVSSGG GGSGGGSGGGSEIIVLTQSPGTLSTLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQYDRSPLTFGGGKVEIK
70		DLL3-7 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGTTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGGQTLVTVSSGG GGSGGGSGGGSEIIVLTQSPGTLSTLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQYDRSPLTFGGGKVEIK KSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRS KNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHCNFCNSIYWA YWGGQTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQIV VTQFPSLTVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTSGN YFNWVQKQPGQAPRGLIGGKFLA?GTIPAR ESGSLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGIKLTVL
71		DLL3-8	VE CDR1	SFYWS
72		DLL3-8	VE CDR2	YIYSGTTNYNPSLKS

73		DLL3-8	VH CDR3	IAVAGFFFDY
74		DLL3-8	VL CDR1	RASQSVNKNYLA
75		DLL3-8	VI CDR2	GASSRAT
76		DLL3-8	VL CDR3	QQYDRSPLT
77		DLL3-8	VH	QVQLQEWGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYN PSLKSRVVISVDTSKNQLSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGTIVTVSSK
78		DLL3-8	VL	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVN KNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDEFAVYYCQ QYDRSPLTFGGGTKVDIK
79	EGF-3	DLL3-8	scFv	QVQLQEWGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYN PSLKSRVVISVDTSKNQLSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGTIVTVSSGG GGSGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLTSLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDEFAVYYCQYDRSPLTFGGGTKVDI K
80		DLL3-8 x I2C	биспециф ическая молекула	QVQLQEWGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYN PSLKSRVVISVDTSKNQLSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGTIVTVSSGG GGSGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLTSLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDEFAVYYCQYDRSPLTFGGGTKVDI KSGGGSEIVLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNXYAMNWRQAPGKLEWVARIRS KYNKYATYYADSVKERTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSYWA YWGQGTIVTVSSGGGGSGGGGGGGGQTV VTQRFPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGN YPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPAR FSGSITLGGKAAITLISGVQPFDRFAFYCVI WYSNRWVFGGTKLTVL
81		DLL3-9	VH CDR1	SFYWS
82		DLL3-9	VII CDR2	YIYYSGTTNYNPSLKS
83		DLL3-9	VH CDR3	IAVAGFFFDY
84		DLL3-9	VL CDR1	RASQSVNKNYLA
85		DLL3-9	VL CDR2	GASSRAT
86		DLL3-9	VI CDR3	QQYDRSPLT
87		DLL3-9	VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYN PSLKSRVVISVDTSKNQLSLKLSVTAADT

				AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSS
88		DLL3-9	VL	EIVLTQSPGTLISLSPGESATLSCRASQSVN KNYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QYDRSPLTFCGQTRLEIK
89	EGF-3	DLL3-9	scFv	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSCASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GGSGGGGGGGSEIVLTQSPGTLISLSPGE SATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQYDRSPLTFCGQTRLEI K
90		DLL3-9 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSCASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GGSGGGGGGGSEIVLTQSPGTLISLSPGE SATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQYDRSPLTFCGQTRLEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWRQAPCKGLEWVARIRS KYNLYATYADSVKDRFTSRDSDSKNTAYL QMNNLKTELTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA YWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGQIV VTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVISGN YPNHWQKPGQAPRGLIGGKFLA?GIPAR FSGLLGGKAAITLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGIKLTVL
91		DLL3-10	VE CDR1	SYYS
92		DLL3-10	VE CDR2	YIFYNGITNYNPSLKS
93		DLL3-10	VE CDR3	IHSGSFSFDY
94		DLL3-10	VL CDR1	RASQSVSRGYLA
95		DLL3-10	VL CDR2	GASSRAT
96		DLL3-10	VL CDR3	QQYDTSPIT
97		DLL3-10	VE	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSIS SYYSWIRQPPGKGLEWIGYIFYNGITNYN PSLKSRVTISLDTSKNQFSLKLSVTAADT AKYYCARIHSGSFSFDYWDQGLVTVSS
98		DLL3-10	VL	EIVMTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVS RCYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSRATDIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QYDTSPIIFCGQTKVRIK
99	EGF-3	DLL3-10	scFv	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSIS SYYSWIRQPPGKGLEWIGYIFYNGITNYN PSLKSRVTISLDTSKNQFSLKLSVTAADT AKYYCARIHSGSFSFDYWDQGLVTVSSGG

				GGSGGGGSGGGSEIVMTQSPGTLSPGE RATLSCRASQSVSRGYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATDIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDTSPIIFGQGTKVEI K
100		DLL3-10 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTIVSGGSIS SYYW ⁵ SWIRQPPGKGLEWIGYIFYNGITNYN PSLKSRVTISLDTSKNQFSLKLSVTAADT AKYYCARIHSGSFSFDYWDQGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGSEIVMTQSPGTLSPGE RATLSCRASQSVSRGYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATDIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDTSPIIFGQGTKVEI KSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRS KYN ⁵ NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA YWGGT ⁵ LVTVSSGGGGGGGGGGGGSGQTV VTQEP ⁵ SLTVSPGGTVITLTCGSSTGAVTSGN YPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPAR FSGSLGGKAAALTLSCVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGKLTVL
101		DLL3-11	VH CDR1	NAGMS
102		DLL3-11	VH CDR2	RIK ⁵ NKIDGGTDFAAPVKG
103		DLL3-11	VH CDR3	RGWYGDYFDY
104		DLL3-11	VL CDR1	RSSQSLHNSNGYNYLD
105		DLL3-11	VL CDR2	LGSNRAS
106		DLL3-11	VL CDR3	MQALQTPFT
107		DLL3-11	VH	EVQLVESGGGLV ⁵ KPGGSLRLSCAASGFI FNAGMSWVRQAPGKLEWVGR ⁵ IKNKIDGGT DFAAPVKG ⁵ RFTISRDDSKNTLYIQMNSLKA EDTAVYYCTARGWYGDYFDYWGQGT ⁵ LVTVS S
108		DLL3-11	VL	DIVMTQTP ⁵ LSLPVTPGEPASISCRSSQSL LHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLYLGSNRA SGV ⁵ PPDRFSCSGSGTDFTL ⁵ KTSRVRAEDVGI YYCMQALQTPFTFGPGTKVEIK
109	EGF-3	DLL3-11	scFv	EVQLVESGGGLV ⁵ KPGGSLRLSCAASGFI FNAGMSWVRQAPGKLEWVGR ⁵ IKNKIDGGT DFAAPVKG ⁵ RFTISRDDSKNTLYLQMNSLKA EDTAVYYCTARGWYGDYFDYWGQGT ⁵ LVTVS SGGGGGGGGGGGSDIVMTQTP ⁵ LSLPVTP GEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQK PGQSPQLLYLGSNRA ⁵ SGVPPDRFSCSGSCT DFTL ⁵ KTSRVEAEDVGIYYCMQALQTPFTFG PGTKVEIK
110		DLL3-11 x I2C	биспецифическая молекула	EVQLVESGGGLV ⁵ KPGGSLRLSCAASGFI FNAGMSWVRQAPGKLEWVGR ⁵ IKNKIDGGT DFAAPVKG ⁵ RFTISRDDSKNTLYLQMNSLKA

				EDTAVYYCTARGWYGDYFDYWGQGLVTVS SCGGGSGGGGSGGGSDIVMTQTPLSLPVT PCEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQK PGQSPQLLIYLGSNRASGVDRFSGSGSGT DFTLKRVEAEDVGIYYCMQALQTPFTFG PGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SI.KL.SCAASGFTFNKYAMNWVRQA?GKGLF WVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYVCVRHGFEN SYISYWAYWGQGLVTVSSGGGGGGGGSG GGGQTVVTQEPPLTVSPGGTVTLTCCSST GAVTSGNY?NHWQK?GQAPRGLIGGTKFL APGTPARFSGSLGGKAALILSGVQPEDEA EYYCVLWYSNRWVFGGTRKLTVL
111		DLL3-12	VE CDR1	SYDTH
112		DLL3-12	VE CDR2	VISSIHGSNKNYARSVKG
113		DLL3-12	VE CDR3	DGYSGNDFYYYYYHGM DV
114		DLL3-12	VL CDR1	RASQSISSYLN
115		DLL3-12	VL CDR2	AASSLQS
116		DLL3-12	VL CDR3	QQSFTTPLT
117		DLL3-12	VE	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRSCAASGFSS SYDIHWVRQAPGKGLEWVAVISSHGSNKNY ARSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLKAED TAVYVCAREGYSGND?FYYYEGMDVWGQG TTVTVSS
118		DLL3-12	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVITCRASQSI SYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFGSGSGTDFSLTISLQPEDFATYYCQQ SFTTPLTFGCC?KVEIK
119	EGF- 3/[4]	DLL3-12	scFv	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRSCAASGFSS SYDIHWVRQAPGKGLEWVAVISSHGSNKNY ARSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLKAED TAVYVCAREGYSGND?FYYYEGMDVWGQG TTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSP SSLSASVGRVITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSG TDFSLTISLQPEDFATYYCQQSFTTPLTF GCCTKVEIK
120		DLL3-12 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRSCAASGFSS SYDIHWVRQAPGKGLEWVAVISSHGSNKNY ARSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLKAED TAVYVCAREGYSGND?FYYYEGMDVWGQG TTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSP SSI.SASVGRVITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSG TDFSLTISLQPEDFATYYCQQSFTTPLTF GGGKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSI.KL.SCAASGFTFNKYAMNWVRQA?PKGL EWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR

				DSKNTAYLQMNLLKTEDIAVYYCVRHGNGF NSYTSYWAYWGQGTIVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQTVVTQEPSTLIVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKFGQAFRGLIGGTFK LAPGTPARFSGSLGGKAAITLISGVQPEDE AEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
121		DLL3-13	VH CDR1	SYMH
122		DLL3-13	VH CDR2	IINPSDGSNTYAQNFOG
123		DLL3-13	VH CDR3	GGNSAFYSYYDMDV
124		DLL3-13	VL CDR1	RSSQSLVYRDGNTYLS
125		DLL3-13	VL CDR2	KVSNWQS
126		DLL3-13	VL CDR3	MQGTHWPPT
127		DLL3-13	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYMHVWRQAPGGLEWMIINPSDGSNTY AQNFGQGRVTMTRDTSNTVYMEISLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSS
128		DLL3-13	VL	DVVMTQSPFLSPLVTLGQPASISCRSSQSLV YRDGNTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNWQ SGVPDRFSGSGSDTFTLKISRVEAEDVGV YFCMQGTHWPPTFGQTKVEIK
129	EGF-4	DLL3-13	scrV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYMHVWRQAPGGLEWMIINPSDGSNTY AQNFGQGRVTMTRDTSNTVYMEISLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGGSGGGSGGGSDVVMTQSPFLSPLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPPT FGQTKVEIK
130		DLL3-13 x I2C	биспециф ическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYMHVWRQAPGGLEWMIINPSDGSNTY AQNFGQGRVTMTRDTSNTVYMEISLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGGSGGGSGGGSDVVMTQSPFLSPLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPPT FGQTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWWRQAPGK LEWVARIRSKYNNYAIYYAESVKERFTISR DSKNTAYLQMNLLKTEDIAVYYCVRHGNGF GNSYISYWAYWGQGTIVTVSSGGGGSGGGG SGGGSQTVVTQEPSTLIVSPGGTVTLTCGS TGAVTSGNYPNWVQKFGQAFRGLIGGTFK LAPGTPARFSGSLGGKAAITLISGVQPEDE AEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
131		DLL3-14	VH CDR1	NYMH

132		DLL3-14	VE CDR2	IINPSDGSSTSYAQKFQG
133		DLL3-14	VE CDR3	GGNSAFYSYYDMDV
134		DLL3-14	VL CDR1	RSSQSLVYRDGNTYLS
135		DLL3-14	VL CDR2	KVSNWQS
136		DLL3-14	VL CDR3	MQGTHWPPT
137		DLL3-14	VE	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYCFT NYYMHWRQAPGLGLEWMTIINPSDGSSTSY AQKFQGRVTMIRDTSNTVYDLSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGITVT VSS
138		DLL3-14	VL	DVVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLV YRDGNTYLSWFGQRPQSPRRLIYKVSNWQ SGVPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQGTHWPPTEFGQGTKVEIK
139	EGF-4	DLL3-14	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYCFT NYYMIHWVRQAPGLGLEWMTIINPSDGSSTSY AQKFQGRVTMIRDTSNTVYDLSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGITVT VSSGGGGGGGGGGGGSDVVMTQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGGGG GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPPTE FGQGTKVEIK
140		DLL3-14 x I2C	биспециф ическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYCFT NYYMHWRQAPGLGLEWMTIINPSDGSSTSY AQKFQGRVTMIRDTSNTVYDLSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGITVT VSSGGGGGGGGGGGGSDVVMTQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGGGG GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPPTE FGQGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DSDKNTAYLQMANLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQCTLVTVSSGGGGSCGGG SGGGSSQTVVTQFPSITVSPGGTVTITCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPSTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGIKLTVL
141		DLL3-15	VE CDR1	GYIII
142		DLL3-15	VE CDR2	IINPSDGSSTSYGQNFQG
143		DLL3-15	VE CDR3	GGNSAFYSYYDMDV
144		DLL3-15	VL CDR1	RSSQSLVYRDGNTYLS
145		DLL3-15	VL CDR2	KVSNWQS
146		DLL3-15	VL CDR3	MQGTHWPPT

147		DLL3-15	VE	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT GYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDGS ^T SY GQNFQGRVTMIRD ^T STNTVYELSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGT ^T V ^T VSS
148		DLL3-15	VL	DVVMTQSP ^L SLPVT ^L LGQPASISCRSSQSLA YRDGNTY ^L TSWFQQRPGQSPRRLIYK ^V SNWQ SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YFCMQGTHWPPT ^T FGQGTKVEIK
149	EGF-4	DLL3-15	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT GYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDGS ^T SY GQNFQGRVTMIRD ^T STNTVYELSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGT ^T V ^T VSSGGGGGGGGGGGGSDVVMTQSP ^L SLP VTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTY ^L TSWFQ QRPGQSPRRLIYK ^V SNWQSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPPT FGQGTKVEIK
150		DLL3-15 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT GYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDGS ^T SY GQNFQGRVTMIRD ^T STNTVYELSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGT ^T V ^T VSSGGGGGGGGGGGGSDVVMTQSP ^L SLP VTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTY ^L TSWFQ QRPGQSPRRLIYK ^V SNWQSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPPT FGQGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSTKISCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGK G:HWVARI ^R SKYKNYA ^T YADSVKDR ^F T:SR DSDKNTAYLQMN ^L KTED ^C AVYYCVRHGNF GNSYISWAYW ^Q QGT ^I VTVSSGGGGGGGGG SGGGSSQ ^T VV ^I Q ^F PS ^I TVSPGG ^T V ^T I ^C GS STGAVTSGNYFNWVQ ^K PGQAPRGLIGG ^T K FLAPGTPARFSGSLGGKAAL ^T LSGVQPED KAEY ^C V ^L WYSNRWV ^F GGG ^T K ^I V ^I .
151		DLL3-16	VE CDR1	GHYMH
152		DLL3-16	VE CDR2	IINPSDGS ^T NYAQKFQG
153		DLL3-16	VE CDR3	GT ^T VVHI ^S Y ^D Y ^D V
154		DLL3-16	VL CDR1	RSSQSLVYRDGNTY ^L T
155		DLL3-16	VL CDR2	KVSNWQS
156		DLL3-16	VL CDR3	MQGTHWPPT
157		DLL3-16	VE	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT GHYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSDGS ^T NY AQKFQGRVTMIRD ^T STSTVYELRSLRSED TAVYYCTRG ^T IVVHI ^S Y ^D Y ^D VWGQGT ^T V ^T VSS
158		DLL3-16	VL	DVVMTQTP ^L SLPVT ^L LGQPASISCRSSQSLV YRDGNTY ^L TSWFQQRPGQSPRRLIYK ^V SNWQ SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV

				YYCMQGTIHWPPTFGGGKVEIK
159	EGF-4	DLL3-16	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT GHYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSDGSSTNY AQKFQGRVTMIRDTSSTVYVELRSLRSED TAVYYCTRGTIVVHYSYDMDVWGQGTCTVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLTWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVDPDRFSGSGS GTDFTLTKISRVEAEDVGVVYCMQGTIHWPP TFGGGKVEIK
160		DLL3-16 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT GHYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSDGSSTNY AQKFQGRVTMIRDTSSTVYVELRSLRSED TAVYYCTRGTIVVHYSYDMDVWGQGTCTVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLTWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVDPDRFSGSGS GTDFTLTKISRVEAEDVGVVYCMQGTIHWPP TFGGGKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGK LEWVARIRSKYKNYATYYADSVKDRFTISR DSDKNTAYLQMNLRKTEETAVYYCVRHGNF GNSYLSYWAYWGQGTIVTVSSGGGSGGGG SGGGGSGTAVIQEPLTVPSTVTLTCSG STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYVCVWYSNRWVFGGGIKLTVL
161		DLL3-17	VE CDR1	NYFMH
162		DLL3-17	VE CDR2	IINPSDGSSTSYAQNFQG
163		DLL3-17	VE CDR3	GGNSAFYSYDMDV
164		DLL3-17	VL CDR1	RSSQSLVYRDGNTYLS
165		DLL3-17	VL CDR2	RVSNWQS
166		DLL3-17	VL CDR3	MQGTIHWPP
167		DLL3-17	VE	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYFMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSSTSY AQNFQGRVTMIRDTSSTVYVELSRLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYDMDVWGQGTCTVT VSS
168		DLL3-17	VL	DVVMTQSPFLSLPVTLLGQPASISCRSSQSLV YRDGNTYLSWVQQRPGQSPRRLIYRVSNWQ SGVDPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGV YFCMQGTIHWPPTFGGGKVDIK
169	EGF-4	DLL3-17	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYFMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSSTSY AQNFQGRVTMIRDTSSTVYVELSRLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYDMDVWGQGTCTVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPFLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYRVSNWQSGVDPDRFSGSGS

				GTDFTLKTSRVEAEEDVGVYFCMQGTYPPT FGQGTKVDIK
170		DLL3-17 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSCAEVKKPCASVKVSKASCYFT NYFMHWVRQAPGIGLWMMGIINPSDGSISY AQNFCGRVTMTROTSTNTVYMELSLRS EDTAVYYCARCGNSAFYSYYLMDVWQGTIVT VSSGGGGSGGGSGGGSDVVMTQSLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPQQSPRRITVYKSNWQSGVPRFSGSGS GTDFTLKTSRVEAEEDVGVYFCMQGTYPPT FGQGTKVDIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GSSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGK LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DSDKNTAYLQMNLIKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWQGTIVTVSSGGGGSGGG SGGGGQIVVTQEPVSLTVSPGGTVTLTCS STGAVTSGNYPNWVQKPKQAPRGLGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLTSGVQPED EAEYCVLWYSNRWVFGGKTLTVL
171		DLL3-18	VH CDR1	NYGMH
172		DLL3-18	VH CDR2	VISHHGSSKYARSVKG
173		DLL3-18	VH CDR3	DWWELEVDY
174		DLL3-18	VL CDR1	KSSQSLHSDGKTFLY
175		DLL3-18	VL CDR2	EVSNRFS
176		DLL3-18	VL CDR3	LQGIHLPT
177		DLL3-18	VH	QVQLVESGGAVQPGRSRLSCAASGFTFS NYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISHHGSSKYY ARSVKGRFTISRDNKNTLYLEMNSLRAED TAVYYCARDWELVFDYWGQGTIVTVSS
178		DLL3-18	VL	DIVMTQTPLSLSTVTPGQPASISCKSSQSL ESDGKTFLYWYLQKPKQPPQLLIYVSNRF SGVPRFSGSGGTDFTLTKISRVEAEEDVGV YYCLQGIHLPTFGPGTKVEIK
179	EGF- 5/[6]	DLL3-18	scFv	QVQLVESGGAVQPGRSRLSCAASGFTFS NYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISHHGSSKYY ARSVKGRFTISRDNKNTLYLEMNSLRAED TAVYYCARDWELVFDYWGQGTIVTVSSGG GGSGGGSGGGSDIVMTQTPLSLSTVTPGQ PASISCKSSQSLHSDGKTFLYWYLQKPKQ PPQLLIYVSNRFSGVPRFSGSGGTDFT LTKISRVEAEEDVGVYYCLQGIHLPTFGPGT KVEIK
180		DLL3-18 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVESGGAVQPGRSRLSCAASGFTFS NYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISHHGSSKYY ARSVKGRFTISRDNKNTLYLEMNSLRAED TAVYYCARDWELVFDYWGQGTIVTVSSGG GGSGGGSGGGSDIVMTQTPLSLSTVTPGQ PASISCKSSQSLHSDGKTFLYWYLQKPKQ PPQLLIYVSNRFSGVPRFSGSGGTDFT

				LKISRVEAEDVGVYYCLQGIHLPFTFGPGT KVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLK LSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TAYLQMNLIKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYT SYWAYWGGGTLVTVSSGGGGGGGGGGGG SQTVVVTQEPSTVSPCGTVTITCGSSTGAV TSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLIVL
181		DLL3-19	VH CDR1	NSRMGVS
182		DLL3-19	VH CDR2	HIFSN DGKSYSTSLKS
183		DLL3-19	VH CDR3	YNYDSSGYYSFFDY
184		DLL3-19	VL CDR1	RASQSISSYLN
185		DLL3-19	VL CDR2	AASSLQS
186		DLL3-19	VL CDR3	QQGYSSPFT
187		DLL3-19	VH	QVTLKESGPM LVKPTETLTCTVSGFSL NSRMGVSWIRQPPGRALEWLAHIFSDGKS YSTSLKSRITISKDTSKSQVVLTMNMDPV DTATYYCARYNYDSSGYYSFFDYWGGT LTVSS
188		DLL3-19	VI	DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQSI SYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTLSLQPEDFATYYCQ GYSSPFTFGGGTKVEIK
189	EGF- 5/[6]	DLL3-19	scFv	QVTLKESGPM LVKPTETLTCTVSGFSL NSRMGVSWIRQPPGRALEWLAHIFSDGKS YSTSLKSRITISKDTSKSQVVLTMNMDPV DTATYYCARYNYDSSGYYSFFDYWGGT LTVSSGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPSS LSASVGRVITTCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTLSLQPEDFATYYCQGYSSPFTFGG GTKVEIK
190		DLL3-19 x I2C	биспециф ическая молекула	QVTLKESGPM LVKPTETLTCTVSGFSL NSRMGVSWIRQPPGRALEWLAHIFSDGKS YSTSLKSRITISKDTSKSQVVLTMNMDPV DTATYYCARYNYDSSGYYSFFDYWGGT LTVSSGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPSS LSASVGRVITTCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTLSLQPEDFATYYCQGYSSPFTFGG GTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGS LKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEW VARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TAYLQMNLIKTEDTAVYYCVRHGNFGNS YTSYWAYWGGTTLVTVSSGGGGGGGGGGGG GGSTVVVTQEPSTVSPCGTVTITCGSSTG AVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLA

				PGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAE YYCVLWYSNRWVFGGGTKLIVL
191		DLL3-20	VE CDR1	NARMGVSV
192		DLL3-20	VE CDR2	HIFSTDEKSYSTSLKS
193		DLL3-20	VE CDR3	YYDSSGYYSFFDY
194		DLL3-20	VL CDR1	RASQSIRSYLN
195		DLL3-20	VL CDR2	GASNLQS
196		DLL3-20	VI CDR3	QQSYSSPFT
197		DLL3-20	VE	QVTLKESGPVLVKPTEFLTLCTVSGFSL NARMGVSWLRQPPGKALEWLAHIFSTDEK YSTSLKSRLLTISKDTSKSQVVLMTNMDPV DTATYYCARYYYDSSGYYSFFDYWGQGT LVVSS
198		DLL3-20	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQIR SYLNWYQQKPKGKAPKLLIYGASNLQSGVPS RFGSGSGSDTFLTLTISLQPEDFATYYCQ SYSSPFTFGGCKVEIK
199	EGF- 5/[6]	DLL3-20	scFv	QVTLKESGPVLVKPTEFLTLCTVSGFSL NARMGVSWLRQPPGKALEWLAHIFSTDEK YSTSLKSRLLTISKDTSKSQVVLMTNMDPV DTATYYCARYYYDSSGYYSFFDYWGQGT LVVSSGGGGSEGGGGGGSDIQMTQSPSS LSASVGDRTITCRASQIRSYLNWYQQK GKAPKLLIYGASNLQSGVPSRFGSGSGSD FLTLTISLQPEDFATYYCQSYSSPFTFGG GTKVEIK
200		DLL3-20 x I2C	Биспециф ическая молекула	QVTLKESGPVLVKPTEFLTLCTVSGFSL NARMGVSWLRQPPGKALEWLAHIFSTDEK YSTSLKSRLLTISKDTSKSQVVLMTNMDPV DTATYYCARYYYDSSGYYSFFDYWGQGT LVVSSGGGGSEGGGGGGSDIQMTQSPSS LSASVGDRTITCRASQIRSYLNWYQQK GKAPKLLIYGASNLQSGVPSRFGSGSGSD FLTLTISLQPEDFATYYCQSYSSPFTFGG GTKVEIKSGGGSEFVQIVFSGGTVQPGGS LKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEW VARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD3 KNTAYLQMNKTEDTAVYYCVRHGNFGNS YISYWAYWGQETLVTVSSGGGGGGGGSGG GGSQTVVTQEPSTVSPGGIVTLTCGSSIG AVTSGNYPNWVQKPKGAPRGLIGGTFELA PGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAE YYCVLWYSNRWVFGGGTKLIVL
201		DLL3-21	VE CDR1	SYIHH
202		DLL3-21	VE CDR2	IINPSGGSKSYAQKFRG
203		DLL3-21	VE CDR3	SMSTVTSDAFDI
204		DLL3-21	VL CDR1	RASQISINYLN

205		DLL3-21	VL CDR2	AASSLQS
206		DLL3-21	VL CDR3	QQSYSAPLT
207		DLL3-21	VE	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SYYIHWVRQAPGGLEWMGIINPSGGGSKSY AQKFRGRVTMIRDTSSTVYVELSSLTISED TAVYYCARSMSTVTSDAFDIWGGQTMVTVS S
208		DLL3-21	VI	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSI NYLNWYQQKPKGAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGGSGTFFTLTISLQPEDFATYYCQQ SYSAPLTFGGGTKVDIK
209	EGF-5/[6]	DLL3-21	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SYYIHWVRQAPGGLEWMGIINPSGGGSKSY AQKFRGRVTMIRDTSSTVYVELSSLTISED TAVYYCARSMSTVTSDAFDIWGGQTMVTVS SGGGSGGGGGGGGGSDIQMTQSPSSLSAS VGDRTITCRASQSI NYLNWYQQKPKGAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTFFTLT ISLQPEDFATYYCQQSYSAPLTFGGGTKV DIK
210		DLL3-21 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SYYIHWVRQAPGGLEWMGIINPSGGGSKSY AQKFRGRVTMIRDTSSTVYVELSSLTISED TAVYYCARSMSTVTSDAFDIWGGQTMVTVS SGGGSGGGGGGGGGSDIQMTQSPSSLSAS VGDRTITCRASQSI NYLNWYQQKPKGAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTFFTLT ISLQPEDFATYYCQQSYSAPLTFGGGTKV DIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTA YLNQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGQ TVVTVQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS GNYPNWVQQKPGQAPRGLIGSTKFLAPGTP ARFSGSIIGGKAAITISGVQPEDFAFYCV LWYSNRWVFGGSKLTVL
211	EGF-3	DLL3-4 x F12Q	биспецифическая молекула	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SYYNSWIRQPPGKLEWIGYVYSGTINYN PSLKSRTLSVDTSKNFSLKLSVTAADT AVYYCASTAVTGFYFDYWGQGLVTVSSCG GGSGGGGGGGGSEIVLTQSPGTLSPG RVTLSCRASQRVNNTLAWYQRPQAPRL LIYGASSRATCFDRFSGSGSDFTLCTIS RLEPEDFAVYYCQYDRSPLTFGGGTKLEI KSCGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLWVARI RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTA YLNQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGQ TVVTVQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS GNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTP ARFSGSIIGGKAAITISGVQPEDFAFYCV LWYSNRWVFGGSKLTVL

				FSGSLLGGKAALTLSCVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVL
212	EGF-3	DLL3-5 x F12Q	биспецифическая молекула	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIS SYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGRTNYY PSLKSRVTISIDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GGSGGGSGGGGSEI VLIQSPGTLTSLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKLEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYL QMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWA YWGQGLVTVSSGGSGGGSGGGSGGGSQTV VTQEPSTLVSPGGTVILTCGSSTGAVTSGN YFNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLSCVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVL
213	EGF-3	DLL3-6 x F12Q	биспецифическая молекула	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASIS SYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGCTNYYN PSLKSRVTLSDVTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GGSGGGSGGGGSEI VLIQSPGTLTSLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKVEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYL QMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWA YWGQGLVTVSSGGSGGGSGGGSGGGSQTV VTQEPSTLVSPGGTVILTCGSSTGAVTSGN YFNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLSCVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVL
214	EGF-3	DLL3-7 x F12Q	биспецифическая молекула	QVQLQESGPGLVKPSQTLTCTVSGASIS SYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGTNNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARTAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GGSGGGSGGGGSEI VLIQSPGTLTSLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKVEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYL QMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWA YWGQGLVTVSSGGSGGGSGGGSGGGSQTV VTQEPSTLVSPGGTVILTCGSSTGAVTSGN YFNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLSCVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVL

215	EGF-3	DLL3-8 x F12Q	биспецифическая молекула	QVQLQEFWGPGLVKPSEFTLSLTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQSLKLSVTAADT AVYYCARLAVAGFEPFYWGQGLVTVSSGG GGSGGGGGGGSEIVLTQSPGTLSPGPE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGLPDRFSGSGGTDFTLTSS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPITTEGGGTRKVDI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLWVARI KYNNTATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYL QMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWA YWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGQTV VTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGN YFNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPAR FSGSLGGKAALTLSCVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVL
216	EGF-3	DLL3-9 x F12Q	биспецифическая молекула	QVQLQESGPGPLVKPSEFTLSLTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQSLKLSVTAADT AVYYCARLAVAGFEPFYWGQGLVTVSSGG GGSGGGGGGGSEIVLTQSPGTLSPGPE SATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGLPDRFSGSGGTDFTLTSS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPITTEGGGTRLEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLWVARI KYNNTATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYL QMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWA YWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGQTV VTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGN YFNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPAR FSGSLGGKAALTLSCVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVL
217	EGF-3	DLL3-10 x F12Q	биспецифическая молекула	QVQLQESGPGPLVKPSEFTLSLTCTVSGGSSIS SYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYFNGITNYN PSLKSRVTISLDTSKNQSLKLSVTAADT AKYYCARITHSGSFSFDYWDQGTIVTVSSGG GGSGGGGGGGSEIVMTQSPGTLSPGPE RATLSCRASQSVSRGYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATDIPDRFSGSGGTDFTLTSS RLEPEDFAVYYCQQYDTSPIETEGGTRKVEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLWVARI KYNNTATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYL QMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWA YWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGQTV VTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGN YFNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPAR FSGSLGGKAALTLSCVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVL
218	EGF-4	DLL3-13	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYVMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDGSNTY

		x F12Q	молекула	AQNFQGRVTMIRDSTNTVYELSSLRSED TAVYVCARGGNSAFYSYYDMVWGQGT ¹ VT VSSGGGGSGGGSGGGGSDVVMTQSPLESLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVDPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPPT EGQGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP CCSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYKNYATYYADSVKGRFTISR D ¹ DSKNTAYLQMN ¹ SLKTE ¹ DTAVYYCVRHG ¹ NF GNSYVSWWAYWGQGT ¹ LVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSQTVVIQEP ¹ SLTVSPGGTVTLICGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTL ¹ SGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGIKLTVL
219	EGF-4	DLL3-14 x F12Q	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYVMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGS ¹ TSY AQKFQGRVTMIRDSTNTVYDLSSLRSED TAVYVCARGGNSAFYSYYDMVWGQGT ¹ VT VSSGGGGSGGGSGGGGSDVVMTQTPLESLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVDPDRFSGGGG GTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPPT EGQGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYKNYATYYADSVKGRFTISR D ¹ DSKNTAYLQMN ¹ SLKTE ¹ DTAVYYCVRHG ¹ NF GNSYVSWWAYWGQGT ¹ LVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSQTVVIQEP ¹ SLTVSPGGTVTLICGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTL ¹ SGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGIKLTVL
220	EGF-4	DLL3-15 x F12Q	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT GYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDGS ¹ TSY GQNFQGRVTMIRDSTNTVYELSSLRSED TAVYVCARGGNSAFYSYYDMVWGQGT ¹ VT VSSGGGGSGGGSGGGGSDVVMTQSPLESLP VTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVDPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPPT EGQGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYKNYATYYADSVKGRFTISR D ¹ DSKNTAYLQMN ¹ SLKTE ¹ DTAVYYCVRHG ¹ NF GNSYVSWWAYWGQGT ¹ LVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSQTVVIQEP ¹ SLTVSPGGTVTLICGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTL ¹ SGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGIKLTVL
221	N- конц.	DLL3-1 x I2C - HALB вариант	биспецифическая молекула -HALB	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFS DYGIHWVRQAPGKGLEWVAVISYHGSNKYY ARSVKGRFTVSRD ¹ NSKNTLYLQMN ¹ SLRAED TAVYVCAREIPFGMDVWGQGT ¹ TVT ¹ VSSGGG

		1	вариант 1	<p>GSGGGGSGGGSDIVMIQTPLSLPVTPEEP ASISCRSSQSLHSDGYNYLDWYLQKPGQS PQLITYLGSNRASCVPDRFSGSGSGTDFTL TISRVEAEDVGVVYCMQALQTPLEFGGKX VDIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKL SCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVAR IRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSNT AYLQMNNLKTEETAVYYCVRHGNFGNSYIS YWAYWGQGTIVTVSSGGCGSGGGSGGGGS QTVVTQEPSTLVSPGGIVTLTCGSSTGAVT SGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGT PARFSGSLGGKAALILSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGKTLIVLPGGGSDAHKS EVAHREKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCP FEDHVKI.VNEVTRFAKTCVADESAFNCDKS LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQE PERNECFLQHKDNPXLPRLVLRPEVDVMCT AFHDNEETFLKXYLYE IARRHPYFYAPPELL FFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWA VARLSQRFPPKARFAFVSKLIVTDLTKVHTFC CEGDLECAADRADLAKYICENQDSISSKL KECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSL AADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYA RRHPDYSVVLRLRLAKIYETTLKCCAAAD PHECYAKVFEFKPLVEEPQNLIKQNCLEF EQLGFKYFNQALILVRYTKKVPQVSTPTIVE VSRNLGKVGSKCKKHPKAKRMPCAEDYLSV VLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRR PCFSALVEDETYVPKEFNAGTFTFHADICT LSEKERQIKKQTAIVLVKHKPKATKEQLK AAMDDFAAFVEKCKCKADDKETCFAEEGKKL VAASQAALGLHHHHH</p>
222	N- конц.	DLL3-2 x I2C - HALB вариант 1	Биспециф ическая молекула -HALB вариант 1	<p>QVQLVQSGAFLVKKPGASVKVSCKASGYFTT GYMHWVRQAPGQGLEWYMGWINPNSGDTNY AOKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLESD TAVYYCARDANIAALDAFEIWGQGMVTVS SGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLAS VGDRVITICRASQSISSYLNWYQKPKGKAP KLITYAASSIQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQSYSTPLTFFGGGKTV EIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARI RSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTA YLQMNNLKTEETAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTIVTVSSGGCGSGGGSGGGGSQ TVVTQEPSTLVSPGGIVTLTCGSSTGAVTS GNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTP ARFSGSLGGKAALILSGVQPEDEAEYYCV LWYSNRWVFGGKTLIVLPGGGSDAHKSE VAHREKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPF EDHVKI.VNEVTRFAKTCVADESAFNCDKSI HTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEP</p>

				<p>ERNFCFTLQHKDDNPNT.PRLVVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLF FAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRL DEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAV ARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTQVHTECC HGDLEECADDRADLAKYICENQDSISSKLLK ECCCKPLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLA ADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYAR RHPDYSVVLRLRLAKTYETLEKCCAAADP HECYAKVEDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFE QLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEV SRNIGKVGSKCKKHPAKRMPCAKIDYLSV LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRP CFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTL SEKERQIKKQTALEVLVKEKPKATKEQLKA AMDDFAAFVEKCKADDKETCFEAEGKLV AASQAALGLHHHHEH</p>
223	EGF-1	<p>DLL3-3 x I2C - HALB</p>	<p>биспептид изоская молекула -HALB</p>	<p>QVQLVESGGGVQVQGRSLRLSCAASGFTFS SYGMHWVRQAPGKGLWEVAVISYEGRDTYY ARSVKGRFTISRDNKNTLYLHMNSLRRAED TAVYYCARDGATVTSYYSGMDEVWGGQGT TVSSGGGSGGGGSGGGSDIQNTQSPSSI. SASVGRVITCRASQGTSNYIAWFQQKPG KAPKSLIYLASSLQSGVPSKFSGSGSGTDF TLTISLQPEDFATYYCQQYNFYVFTFGPG TKVDIKSGCGGSEVQLVESGGGLVQPCGSL KLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLWEV ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSK NTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY ISYWAYWGGSTLVTVSSGGGSGGGGSGGG GSQIVVTQEPSLTVSPGGIVTLTCCSSTGA VTSGNYPNWVQKPKGQAPRGLIGGTRFLAP GTPARFSGSLLGKKAALTLVSGVQPEDEAEY YCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLPGGGSDAH KSEVAHREFKDLGEENFKALVLIIFAQYLQQ CPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAK QEPERNECFLQHKDDNPNTLRLVVRPEVDVM CTAFDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPE LLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLD ELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKA WAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTQVHTE ECCGDLLEECADDRADLAKYICENQDSISS KLKCCCKPLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYE YARRHPDYSVVLRLRLAKTYETLEKCCAA ADPFRCYAKVDFKPLVEEPQNLIKQNCLE LFFQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTL VEVSRLGKVGSKCKKHPAKRMPCAEDYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVN RRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADI CTLSEKERQIKKQTALEVLVKEKPKATKEQ LKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFEAEGK</p>

				<p>KT.VAASQAALGIHEHHHH</p> <p>QVQLQESGGPGLVKPSETLSLTCTVSSGGIS SYYWSWIRQPPGKLEWIGYVYYSGTTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCASIAVTFGYFDYWGQGLVTVSSGG GSGGGGSGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGE RVTLSCRASQRVNKNYLAWYQQRPGQAPRL LIYGASSRATGIPDR:SGSGSSTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKLEI KSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASCFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKDRFTISREDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA YWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGQTV VTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTSGN YPNWVQQRPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYCVLW YSNRWVFGGSKLTVLPGGGSDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLIAFAYLQCCPFED HVKLVNEVIEFAKTCVADESAENCCKLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER NECFIQHKDDNPNIPRI.VRPFVDMCTAFH DNEFTFLKYY.VETARRHPYFYAFELIFFA KRYKALFTECCQAADKAACLLPKLDELRLDE GKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVAR LSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVTECCCHG DLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCE CEKPLLEKSIICIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRH PDYSVLLLRLLAKTYETTLKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQL GEYXFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCKHPEAKKMPCAEDYLSVVLN QICVLEKKTIPVSDRVTKCCPESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAETTFTHADICTLSE KERQIKKQIALVELVKHKPKATREQLKAVM DDFAAFVEKCKKADDKETCFAEKGLVAA SQAALGLHHHHHH</p>
224	EGF-3	DLL3-4 x I2C - HALB	биспецифическая молекула -HALB	
225	EGF-3	DLL3-5 x I2C - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVQLQESGGPGLVKPSETLSLTCTVSSGGIS SYYWSWIRQPPGKLEWIGYVYYSGRITNYN PSLKSRVTISIDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GSGGGGSGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQRPGQAPRI LIYGASSRATGIPDR:SGSGSSTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKLEI KSCCGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASCFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKDRFTISREDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA YWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGQTV VTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTSGN YPNWVQQRPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPAR</p>

				<p>FSGSILGGKAAITLSGVQPFDEAFYYCVLW YSNRWVFGGSKLTVLPGGGSDAHKSEVA HRFXDLGEENFKALVLIAPAYLQQCFED HVKLVNEVIEFAKTCVADESAENCDKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER NECFLQHKDDNPNLPRLVREPEVDMCTAFH DNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPELFFA KRYKAAFTCCQAADKAACLLPKLELRDE GKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVAR LSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVETECCHG DLIQCADDRADLAKYICENQDSSLKLEK CEKPLLEKSHCIAEVNDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRH PDYSVLLLRLLAKTYETLEKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQL GEYXFNALLVRYTKVQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCKHFEAKRMPCAEDYLSVVLN QLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSE KERQIKKQIALVELVKHKPKATREQLXAVM DDFAAFVEKCKKADDKETCFABEGKLVAA SQAALGLHHHHH</p>
226	EGF-3	DLL3-6 x I2C - HALB	биоспецифическая молекула -HALB	<p>QVQIQFSGPGVVKPSFTLSITCTVSGASTS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTINYN PSLXSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GGSGGGSGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQKQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKEI KSGGGSEVQLVESGGGLVQFSGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKDRFTLSRQDSKNTAYL QMNNIKTEITAVYYCVRHGNFGNSYISYWA YWGQGLVIVSSGGGSGGGSGGGGSGTV VTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSGCAVTSGN YPNWVQKQKQAPRGLIGCTKFLAPGTPAR FSGSLGGKAAITLSGVQPFDEAEYYCVLW YSNRWVFGGSKLTVLPGGGSDAHKSEVA HRFXDLGEENFKALVLIAPAYLQQCFED HVKLVNEVIEFAKTCVADESAENCDKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER NECFLQHKDDNPNLPRLVREPEVDMCTAFH DNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPELFFA KRYKAAFTCCQAADKAACLLPKLELRDE GKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVAR LSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVETECCHG DLIQCADDRADLAKYICENQDSSLKLEK CEKPLLEKSHCIAEVNDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRH PDYSVLLLRLLAKTYETLEKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQL GEYXFNALLVRYTKVQVSTPTLVEVSR</p>

				<p>NI.GKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLN QLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSE KERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVEKCKKADDKETCPAELEGKLVAA SQAALGLIHIIIIIIII</p>
227	EGF-3	DLL3-7 x I2C - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVQLQESGPGGLVKPSQTLTLCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLRWIGYIYYSGTTINYN PSLKSRTVISVDTSKNQSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GGSCGGSGCGGSEIVLTQSPGTLSLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKVEI KSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA YWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGQTV VTQRFPSLTVSPGGTVITCGSSSTGAVTSGN YFNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPAR FSGSLGCKAALTLSCVQPEDEAEYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVLPGGGSDAHKSEVA IRFKDLGEEENFKALVLIAPFAQYLQCCPFED HVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER NECFLQHKDDNPNLPRLVREPEVDMCTAFH DNEETFLKKLYEIARRHPYFYAFELFFA KRYKAAFTCCQAADKAACLLPKLDELRLDE GKASSAKQRIKCASTQKGFERRPKAWAVAR LSQRFPKAEFAVSKVVDITKVTETCCCHG DLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKEC CEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRH PDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHIE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQL GEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLN QLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSE KERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVEKCKKADDKETCPAELEGKLVAA SQAALGLHEHHHH</p>
228	EGF-3	DLL3-8 x I2C - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVQLQEWGPGGLVKPSETLSLCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTINYN PSLKSRTVISVDTSKNQSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GGSCGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRI LIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTVDI KSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRS</p>

				<p>KYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TAYL QMNNLKTEDTAVYYCVREGNFGNSYISYWA YWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGQTV VTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGN YPNWWQQKPGQAPRGLTGGTKFLAPGT PAR FSGSLLGGKAAALTL SGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVLPGGGGSDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCP FED HVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER NECFLOHKDDNP NLPRLVRPEVDMCTAFH DNEETFLKKYLYE IARRRPYFYAPELLFFA KRYKAAFTFCCQAADKAACILPKLDEL RDE GKASSAKQRLKCASTLQKFCERAFKAWAVAR LSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHG DLLECADDRADLAKYICENQDSISSRLKEC CEKPLLEKSHCIAEVENDEM PADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRH PDYSVLLLR LAKTYETLEKCCAAADPPE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQNCLEFEQL GFYKFNAILVRYTKKVPQVSTPTLVFVSR NLGKVGSKCKKHPEAKRMPCAEDYLSVVLN QLCVLHEKTPVSDRVTKCCESLVNR RPCF SALVDETYVPKFFNAETFFHADCTI SE KERQIKKQ TALVELVKKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAA SQAALGLHHHHE</p>
229	EGF-3	DLL3-9 x I2C - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGASIS SFYWSWRQPPGKGLEWIGYIYSSGTTNYN PSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GGSGGGGGGGGGSEIVLTQSPGTLSPGE SATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RI.FPFDFAVYYCQQYDRSPI TFCGGTRIEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TAYL QMNNLKTEDTAVYYCVREGNFGNSYISYWA YWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGQTV VTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGN YPNWWQQKPGQAPRGLTGGTKFLAPGT PAR FSGSLLGGKAAALTL SGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVLPGGGGSDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCP FED HVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER NECFLOHKDDNP NLPRLVRPEVDMCTAFH DNEETFLKKYLYE IARRRPYFYAPELLFFA KRYKAAFTFCCQAADKAACILPKLDEL RDE GKASSAKQRLKCASTLQKFCERAFKAWAVAR LSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHG DLLECADDRADLAKYICENQDSISSRLKEC</p>

				CEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRH PDYSVLLLR LAKTYET TLEKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQL GEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCKEPEAKRMPCAEDYLSVVLN QLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSE KERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVFKCKKADDKETCFARFGKLVAA SQAALGLEHHHHH
230	EGF-3	DLL3-10 x I2C - HALB	биспецифическая молекула -HALB	QVQLQESGPGCLVKPSQTLSTCTVSGGSIS SYYWSWTRQPPGKGLRWIGYIFYNGTNYK PSLKRVTISLDTSKNQFSLKLSSTAAADT AKYYCARLHSGSFSIDYWDQGLVTVSSGG GGSGGGGGGGSEIVMTQSPGTLSPGPE RATLSCRASQSVSRGYLAWYQQKPGQAPRL LITYGASSRATDIPDRFSGSGSGTDFTTIS RLEPEDFAVYYCQYDTSPIITFGQGTKVEI KSCGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNIKTKEDTAVYYCVRHGNFGNSY:SYWA YWGQGLVTVSSGGGGGGGGSGGGGSGTV VTQEPFLTVSPGGTITLTCGSSTGAVTSGN YPNWVQQKPGQAPRGLIGGTTKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLGGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWV:GGGTKITVLPGGGSDAHKSEVA HREKDLGEENKALVLIIFAQYLQCCFFED HVKLNVETEFAKTCVADESAENCDKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER NECFLQHKEDNPNLPRLVLRPEVDVMCTAFH DNEETFLKKYLYELARRHPYFYAPELFFFA KRYKAATTECCQAADKAACLPLKLDLDRDE GKASSAKQRLKCASLQKFGGERAFKAWAVAR LSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHG DLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEK CEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRH PDYSVLLLR LAKTYET TLEKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQL GEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCKEPEAKRMPCAEDYLSVVLN QLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAETTFHADICTLSE KERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVFKCKKADDKETCFARFGKLVAA SQAALGLEHHHHH
231	EGF-3	DLL3-11 x I2C - HALB	биспецифическая молекула -HALB	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFI NAGMSWVRQAPGKGLEWVGRIRKNIIDGGTT DFALPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNLSLKA EDTAVYYCTARGWYGDYFDYWGQGLVTVS SGGGSGGGGGGGGSDIVMTQTPLSLPVT

			<p>PGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQK PGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGT DFTTKISRVFAEDVGTYYCMQATQTPFTFG PGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGL WVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNIAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGN SYISYWAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSG GCCSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCCSST GAVISGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFL APGTPARFSGSLGGKAALTLVSGVQPEDE EYYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLPGGGSD AHKSEVAHRFKDLGGEENFKALVLI AFAQYL LQQCFEDEVKLVNEVTEFAKTCVADESSEN CDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYCEMADC CAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVREVD VMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPFYA PELFFAKRYKAAFTCCQAADKAAACLLPK LDELREDEGKASSAKQRLKCAALQKFGRAF KAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVIDLCKV HTECCHQDLLECADDRADLAKYICENQDSI SSKLKECCCKPLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFL YEYARRHPDYSVVLRLAKTYETILEKCC AAADPHECYAKVFEFKPLVSEPNLIKQN CELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTP TLVEVSRNLCKVGSCKCKHPEAKRMPCAED YLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESL VNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFEA DICILSEKERQIKKQ TALVELVXHKPKATK EQLKAVYDDFAAFVEKCKKADDEKICFAEE GKLVAAASQAALGLHHHHH</p>
232	EGF-3/[4]	DLL3-12 x I2C - HALB	<p>биспецифическая молекула -HALB</p> <p>QVQLVESGGGVVQPGRSRLRSCAASGFSFS SYDTHWVRQAPGKGLFWVAVISSHCSNKNY ARSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSKAED TAVYYCARDGYSNDPFYFYIIGMDVWGQG TIVTVSSGGGSGGGGSGGGSDIQTIQSP SLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGG TDFSLTISLQPEDFATYYCQSFITPIIF GGGIKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGL EWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDD SKNIAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGN SYISYWAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSG GCCSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCCSST GAVISGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFL APGTPARFSGSLGGKAALTLVSGVQPEDE EYYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLPGGGSD AHKSEVAHRFKDLGGEENFKALVLI AFAQY LQQCFEDEVKLVNEVTEFAKTCVADESSEN CDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYCEMADC CAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVREVD</p>

				<p>DVMCTAFHDNEETFLLKKYLYEIAARRHPYFY APELLEFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLP KI.DFI.RDFGKASSAKQRI.KCAST.QKFCFRA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCIGDILLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLECCCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSSVLLRLAKTYETILEK CAAADPHRCYAKVDFRFKPIVFRPQNTIKQ NCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAEITFTF ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KFKQI.KAVMDDFAAFVFKCCAKDDKFTCF EKGKLVAAASQAALGLHHHHH</p>
233	EGF-4	DLL3-13 x I2C - HALB	биспециф ическая молекула -HALB	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTT SYIMHWVRQAPGQGLEWMGIINPDSGTSNY AQNFRQCRVTMTRDTSNTVYMFISSTIRSEF TAVYYCARGGNSAFYSYDMDVWGQGITVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPLESLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSINWQSGVPDRFSGSGS GTDFTLKIIRVEAEDVGVYFCMQGITHWPTT PCQCQKVEIKSGGGSEVQLIVFSGCGIIVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNHWVRQAPGK LWVARIRGKYNNYATYYADSVKDRFTISR DSSKNTAYIQMNNIKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVTOEPLTIVSPGGTVILICGS STGAVISGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGIPARFSGSLGGKAALLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGQTKLTVLPGGG SDAHKSEVAHRFKDITGFENFKATVITAFAPQ YLQQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESA ENCCKSLHTEFGDKLCTVATLRETYGEMAD CCAKQEPERNECFLQHKDNPRLVLRPE VDVMCIAFHDNEETFLLKKYLYEIAARRHPYF YAPELLEFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLL PKI.DFI.RDFGKASSAKQRI.KCAST.QKFCFR AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVITDLT KVHTECCIGDILLECADDRADLAKYICENQD SISSKLECCCEKPLEKSHCIAEVENDEMP ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF FLYEYARRHPDYSSVLLRLAKTYETILEK CAAADPHRCYAKVDFRFKPIVFRPQNTIKQ NCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE EDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAEITFTF HADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKA TKFKQI.KAVMDDFAAFVFKCCAKDDKFTCF EKGKLVAAASQAALGLHHHHH</p>

234	EGF-4	DLL3-14 x I2C - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLGLEWYGIINPSDGSTSY AQKFGGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPQQSPRRLIYKVSNWQSGVPPDRFSGGGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQGTHTWPEPT FGQGTKVRIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNLIK^TEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVTQEP^SSLIVSPGGTVTLTCS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKAALTL^SSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFCGCTKLT^VLPGGCG SDAHKSEVAHREKDLGEENFKALVLI^AFAFQ YIQQCFPEFDHVKLVN^FVTEFAKTCVA^DESA ENCDKSLH^TLF^GGKLCIVAT^LRETYGEMAD CCAQKQEPERNECF^LQHKDDNPN^LPRLV^RPE VDVMCTAF^HDNEETFL^KKYLYEIA^RRRHPYF YAP^ELLF^FAKRYKAA^FTECCQAADKAACLL PKLDEL^RDEGKASSAK^QRLK^CASL^QKFGER AFKAWAVARLS^QRFPKAEFAEVSK^LV^TDLT KVHTECC^HGD^LLECAD^DRADLAKYICEN^QD SIS^SKLKECC^EK^DLLEK^SECIAEVEN^DEMP ADI^PSTAA^DFV^RSK^DVCK^NYAEAK^DV^FIGM FLY^EYARRHP^DYSV^VLL^LRLAKTYET^TLEK CCAAAD^PHECYAK^VF^DE^FK^PLVE^PQNL^IK QNCEL^FEQLG^EYK^FQ^NALLV^RYTK^KVP^QVS T^PT^LVE^SRNLG^KVG^SK^CCK^HPEAK^RM^PCA EDY^LSV^VL^NQL^CVL^HEK^TPV^SDR^VT^KCC^TE SLV^NRR^PCF^SALE^VDEI^YVP^KE^FNA^ET^FTF HADICT^LSEKER^QIK^QTAL^VEL^VK^HKE^PKA TKE^QLKAV^MDD^FAA^FVE^KCK^CADD^KET^CFA EEG^KKL^VAA^SQAAL^GLH^HHHHH</p>
235	EGF-4	DLL3-15 x I2C - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT GYIHWVRQAPGGGLEWYGIINPSDGSTSY GQNFQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVMQTQSP^LSLP VTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTYLSWFQ QRPQQSPRRLIYKVSNWQSGVPPDRFSGGGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPEPT FGQGTKVRIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNLIK^TEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVTQEP^SSLIVSPGGTVTLTCS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGKAALTL^SSGVQPED</p>

				<p>EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLPGGGG SDAEKSEVAHRFKDLGEEENFKALVLAFAQ YLQQCPFEEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESA ENCDKSLEHLEGGDKLCTVATLRETYGEMAD CCAKQEPERNECFLEKDDNPNTLPRIVRPE VDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYF YAPELLEFAKRYKAAFTCCQAADKAACLL PKLDELREDEGKASSAKQRLKCASLQKFCER AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSXLVTDLT KVHTECCFGDLECADDRADLAKYICFNQD SISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMP ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVF LGM FLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETLEK CCAAADPEECYAKVDEFEKPLVEEPQNLIK QNCRLFEQIGRYKFNALIVRYTKKVPQVS TPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCA EDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRRCFSALEVDETYVPKEFNAETTFE HADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKA TKFQIKAVMDFFAAFEKCKCKADDFTCFA EEGKLVVAASQAALGLHHHHHHH</p>
236	EGF-4	DLL3-16 x I2C - HALB	биспециф ическая молекула -HALB	<p>CVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT GHYMHWRQAPGGLEWMIINPSDGSINY AQKFCGRVTMTRDTSSTVYMELSRSLRSED TAVYYCTRGTTVVHYSYDMDVWGQTTVT VSSGGGGSGGGSGGGSDVVMVQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLTWFQ QRPGQSPRRILIKVSNWQSGVPIRFSGSGS GTDFTLKI SRVEAEDVGVYCYQGTIHWPT FGGGTKVEIKSGGGSEVQLVSEGGGLVQP GSSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAFKKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR EDSKNTAYLQMNKLTEDTAVYYCVRHCFN GNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCCS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLGGTK FLAPGT PARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLPGGGG SDAEKSEVAHRFKDLGEEENFKALVLAFAQ YLQQCPFEEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESA ENCDKSLEHLEGGDKLCTVATLRETYGEMAD CCAKQEPERNECFLEKDDNPNTLPRIVRPE VDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYF YAPELLEFAKRYKAAFTCCQAADKAACLL PKLDELREDEGKASSAKQRLKCASLQKFCER AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSXLVTDLT KVHTECCFGDLECADDRADLAKYICFNQD SISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMP ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVF LGM FLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETLEK CCAAADPEECYAKVDEFEKPLVEEPQNLIK QNCLEFQIGRYKFNALIVRYTKKVPQVS TPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCA</p>

				EDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRRLPFCFSALEVDETYVPKEFNAETFTF HADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFA EEGKLVVAASQAALGLHHHHH
237	EGF-4	DLL3-17 x I2C - HALB	биспецифическая молекула -HALB	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT NYFMHWVRQAPGLGLEWVGIINPSDGSY AQNFGGRVIMTRDTSNTVYVELSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWGGTQVT VSSCGGSGCGGSGGGSDVVMQSPLSLP VTLGGFASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYRVSNWQSGVPRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTYPPT FGQGTKVDIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKG LFWVARTIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYIQMNNIKTFEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGGTQVTVSSGGGSGGGG SGGGGSGTQVVTQFQPSLTVSPGGTQVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGIIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKALTLGSGVQPED FAFYCVLWYSNRWVFGGQTKLTVLPGGG SDAKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAMFAQ YLQQCFEEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESA KNCIDKSIHITLFGDKLCTVATLRFYTGMA DCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVPE VDVMTAFIDNEETFLKKYLYEELARRIPYF YAPPELLFAKRYKAAFTCCQAADKAACLL FKLDELRLDEGKASSAKQRLKCSLQKFGER AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVIDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQD SISKLEKCEKPLEKSHCIAEVENDEMP ADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFPLGM FLYFYARRHPDYSVVLLRLAKTYETILEK CCAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQNLIK QNCLEFQELGEYKFNALLVRYTKKVPQVS TPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCA EDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRRLPFCFSALEVDETYVPKEFNAETFTF HADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFA EEGKLVVAASQAALGLHHHHH
238	EGF-5/[6]	DLL3-18 x I2C - HALB	биспецифическая молекула -HALB	QVQLVESGGGVAVPGRSLRLSCAASGFTFS NYGMHWVRQAPGKGLWVAVISHEGSSKYY ARSVKGRFTISRDNKNTLYLEKNSLRAED TAVYYCARDWVWELVFDYWGQGTLVTVSSGG GGSGGGSGGGSDIVMTQTFLSLSVTPGQ FASISCKSSQSLLESQDGTFLYWYLGKPGQ PPQLLIYEVSNRFSGVDRFSGSGSGDFT LKISRVEAEDVGVYCLQGIHLPTTFPGPT KVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPPGSLK LSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN

			<p>TAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYI SYWAYWQGGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SQTVVTQRFPSLTVSPGGTVTLTCGSSGAV TSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPG TPARFSGSLLGKKAALTLSCVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGKTLTVLPGGGSDAIK SEVAHRFKDLCEENFKALVLI AFAQYLQCC PFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDK SLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAQ EPERNECFLQHKDDNPRLVLRPEVDVMC TAFHDNEETFLLKLYE IARRHPYFYAPEL LFFAKRYKAAFTFCCQAADKAAC LIPKIDE LRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAW AVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTE CCCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSK LKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPS LAADFVFSKDVCKNYAFADVFLGMFLVYFY ARREPDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAA DPHECYAKVDEDFKPLVEEPQNLKQNCCEL FEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLV EVSRLNGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLS VVLNQLCVLHEKTPVSDRVKCCTESLVNR RPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADIC TLSEKERQIKKQALVELVHKHPRATKEQL KAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCTAEZGKK LVAASQAALGLHEHHHH</p>
<p>239</p>	<p>EGF- 5/[6]</p>	<p>DLL3-19 x I2C - HALB</p>	<p>биспециф ическая молекула -HALB</p> <p>QVTLKESGEMLVKPTETLCTCTVSGFSL NSRMGVSWIRQPPGRALEWLAI FSN DGKS YSTSLKSRLLTISKDTSKSQVVLMTNMDPV DTATYYCARYNYDSSGYYSFFDYWGQGL VTVSSGGGSGGGGSGGGSDIQMTQSPSS LSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQKPK GKAPKLI IYAASSIQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQGYSSPFTFGG GKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGS LKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEW VARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNS YISYWAYWQGGLVTVSSGGGSGGGGSGGG GGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSIG AVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTXFLA PGTPARFSGSLLGKKAALTLSCVQPEDEAE YYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLPGGGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQ QCFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCA KQEPERNECFLQHKDDNPRLVLRPEVDV MCTAFHDNEETFLLKLYE IARRHPYFYAP ELLFFAKRYKAAFTFCCQAADKAACLLPKL DELREDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAK AWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVH TECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSK SKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADL</p>

				<p>PSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVLRLAKTYETILEKCCA AADPHECYAKVFDEPKPLVEEPQNLIKQNC ELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPT LVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLV NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHAD TCTLSEKERQIXKQTALVELVKHKPKATKE QLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFABEG KKLVAASQAALGLEHHHHH</p>
240	EGF-5/[6]	DLL3-20 x I2C - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVTAKFSGPVVVKPTFTITICTVSGFSIS NARMGVSWLRQPPGKALFWLAHIFSTDRKS YSTSLKSRLLTISKDTSKSQVVLTMNMDPV DIATYYCARYYYDSSGGYYYSFFDYWGQGTI VIVSSGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPSS LSASVGDVRTITCRASQSIIRSYLNWYQKPF GKAPKLLIYGASNLQSGVPSRFSGSGGGTD FTLLTSSLOPEDFATYYCQSSYSSPFTFGG GTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGS IKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPCKGTFW VARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYIQYNNLKTWTFVAVYCVRHGNFGNS YISYWAYWGQTLVTVSSGGGGGGGGGGGG GGSQTVVTQEPSTLVSPPGGTVTLTCCGSSG AVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLA PGTPARFSGSLGGKAAALISGVQPEDEAE YVCVLWYNRWVFGGGTKLTVLPGGGGSDA HKSEVAHRFKDLCEENFKALVLIIFAQYLQ QCFPECHVKLVNEVTEFAKTCVVADESANEC DKSTHTIFGDKICTVATIRRTYGFADCCA KQEPERNECFLQHKDDNPNLFRVLRPEVIV MCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAP ELLFPAKRYKAAFTCCQAADKAAACLPLKL DELRDEGKASSAKQRLKCAQLQKFGERAFK AWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVH TECCHGDLLCADDRADLAKYICENQDSIS SKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADL PSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVLRLAKTYETILEKCCA AADPHECYAKVFDEPKPLVEEPQNLIKQNC ELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPT LVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLV NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHAD TCTLSEKERQIXKQTALVELVKHKPKATKE QLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFABEG KKLVAASQAALGLEHHHHH</p>
241	EGF-5/[6]	DLL3-21 x I2C - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SYIIHWVRQAPGQGLEWMCINPSSGSKSY AQKFRGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLTSED TAVYYCARSMSTVTSDAFDIWGQGTMTVTS SGGGGSGGGGGGGGGSDIQMTQSPSSLSAS VGDVRTITCRASQSIIRSYLNWYQKPKGAP</p>

				<p> KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLLT ISSLQPEDFATYYCQQSYSAPLIFGGGKTV DIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPCKLEWVARIR RSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNKLTEDTAVYYCVRHGNGFNSYISY WAYWGGGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSSQ TVVTEPESLTVSPGGTVLTCGSSGTGAVTS CNYPNWVQKPGQAPRGLIGCTKFLAPGTP ARFSGSI:GKKAALTL:SGVQPEDEAFYYCV LWYSNRWVFGGGTKLTVLPGGGSDAHKSE VAHRFKDLGEENFKALVLI:AFAYLQCCPF EDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSL HTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEP FRKFCFLQHKDDNPNI:PRI:VRPEVDVMCTA FIIDNEETFLKKYLYE:IARRHIFYFAPELLF FAKRYKAAFT:ECQAADKAACLLPKLDELRL DEGKASSAKQRLKCA:SLQKFGERAFAKAWAV ARLSQRFPAEFAEVS:KLVTDLTKVHTECC HGDI:ECADDRADIAKYTCFNQDS:SSKIK ECCEKPLEKSHICIAEVENDEMPADLPSLA ADFEVSKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYAR RHPDYSVVLRLAKTYETLEKCCAAADP HECYAKVFD:FKPLVEPQNLIKQNCLELFE QI:GFYKFNATL:VRYTKKVPQVSTPTI:VWV SRNLGKVGSKCK:PEAKRMPCAEDYLSVV LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRP CFSALEVDETYVPEFNAETFTFHADICTL SEKERQLKKQTALVELVKHKPKATKEQLKA VMDFFAA:VFKCCADDKETCF:FAEGKKLV AASQAALGLIHIIHEH </p>
242	EGF-3	DLL3-4 x F12Q - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p> QVQLQESGPGFLVVKPSETLSLTCTVSSGSSIS SYVNSWIRQPPGKGLEWIGYVYYSGTINYN PSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCASIAVTGFYFDYWGQGLVTVSSGG GGSGGGSGGGSEIVLTCSPGTLSSLSPGE RVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFATYYCQQYDRSPLTFGGGKLEI KSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS ASGFTFNSYAMNWRQAPGKLEWVARIRRS KYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYL QMNSLKTEDTAVYYCVRHGNGFNSYVSWWA YWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSSQTV VTQEPESLTVSPGGTVLTCGSSGTGAVTSGN YPNWVQKPGQAPRGLIGCTKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAALTL:SGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVLPGGGSDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLI:AFAYLQCCPFED HVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER NECFLQHKDDNPNI:PRI:VRPEVDVMCTAFH DNEETFLKKYLYE:IARRHIFYFAPELLFFA </p>

				<p>KRYKAAFTFCCQAADKAACTLPKI,DEL,DFE GKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVAR LSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHG DLLEFCADDRADLAKYICFNQDS²SSKLEK CEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRH PDYSVVLLRLAKTYET²LEKCCAAADPHE CYAKVDEFKPLVEEPQNLKQNCLEFEQL GEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLN QLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAET²TFHADICTLSE KERQIKKQTA²VELVKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVEKCKKADDEK²CFAEFGKKLVAA SQAALGLHEHHHH</p>
243	EGF-3	DLL3-5 x F12Q - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SYW²SWIRQPPGKGLEWIC²YIYVSGRTNYY PSLKS²RVTISID²TSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GGSCGGSGGGSEIVLTQSPCTLSLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSG²DFLT²IS RLEPEDFAVYYCQYDRSPLTFGGGT²XLEI KSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFNSYAMNWVRQAPGKLEWVAR²RS KYN²NYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYL QMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGSYVSWWA YWGQGLVTVSSGGGGSGGGGGSG²QTV VTQEPSTLVSPGGTVLTCGSSTGAVTSGN Y²PNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPAR FSGSLGGKAA²TL²SGVQPEDEAEY²CVLW YSNRWVFGG²TKLTVLPGGGSDAHKSEVA IRFKDLGEENE²KALVLI²AFAQYLQCCPFED HVKLVNEVTE²FAKTCVADESAENC²DKLSHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER NECF²LQHKDDN²NL²PRLV²RPEVDV²MCTAFH DNEET²FLKK²LYE²IARRHPY²EYAP²ELLFFA KRYKAAFTFCCQAADKAACTLPKLEDEL²RDE GKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVAR LSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHG DLLEFCADDRADLAKYICFNQDS²SSKLEK CEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRH PDYSVVLLRLAKTYET²LEKCCAAADPHE CYAKVDEFKPLVEEPQNLKQNCLEFEQL GEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLN QLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAET²TFHADICTLSE KERQIKKQTA²VELVKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVEKCKKADDEK²CFAEFGKKLVAA SQAALGLIHHHHH</p>

244	EGF-3	DLL3-6 x F12Q - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVQTQESGPGIVKPSFTLS.TCTVSGASTS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GGSGGGGGGGSEIVLTSFGLTSLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGIDFTLTIS RLEPEDFVAVYYCQQYDRSP.LTFGGGTKEI KSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRS KYNNTATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYL QMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFNGSYVSWWA YWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGGGSGTV VTQEPSTVSPGGTIVTLICGSSSTGAVTSGN YFNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPCTPAR FSGSLGGKAA.LTSLGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGLKLVLPFGGGGSDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLIQAFYQLQCCPFED IIVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHT LFGDKLCTVATLRETVEGEMADCCAKQEPER NECFLQHKDDNPRLPRLVLRPEVDVMCTAFH DNEETFLKKLYELARRHPYFYAPELFFFA KRYKAAETECQAADKAACLLPKLDELRLDE GKASSAKQLKCAASLQKFGGERAFKAWAVAR LSQRFPKAEFAEVSKLVIDLTKVHTECCHG DILRCADDRADAKYICFNQDSISSKIKFC CEKPLLEKSHCTAEVENDEMPADLPSSAAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRH PDYSVLLRLRLAKTYETTLKCCAAADPHE CYAKVFDEEFKPLVEEIQNLKQNCLEFEQL GEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLN QLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSE KERQIKKQCALVELVKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVFKCKKADDKKTCFAKFGKKLVAAS SQAAIGLHHEHHH</p>
245	EGF-3	DLL3-7 x F12Q - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVQLQESGPGIVKPSQTLSTCTVSGASTS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GGSGGGGGGGSEIVLTSFGLTSLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGIDFTLTIS RLEPEDFVAVYYCQQYDRSP.LTFGGGTKEI KSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRS KYNNTATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYL QMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFNGSYVSWWA YWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGGGSGTV VTQEPSTVSPGGTIVTLICGSSSTGAVTSGN YFNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPCTPAR FSGSLGGKAA.LTSLGVQPEDEAEYYCVLW</p>

				<p>YSNRWVFGGGTKLTVLPGGGGSDAHKSEVA HRFKDLGSENFKALVLAFAQYLQQCFED HVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER NECFLQHKDDNPNIPLRVRPEVDMCTAFH DNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPELFFFA KRYKAAFTTECCQAADKAACLPLKLDLDRDE GKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVAR LSQRFPKAEFAEVSXLVTDLTKVHTECCHG DLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKEC CEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKLVFLGMFLYEYARRE PDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQL GEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEJYLSVVLN QLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCF SALVEDETYVPKEFNAETTFHADICTLSE KERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVFKCKADDKFTCFARFGKILVAA SQAALGLIHIIHHIIII</p>
246	EGF-3	DLL3-8 x F12Q - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVQLQEWGPGPLVKPSETLSLTCTVSGASIS SFYWSW:RQPPGKGLKWI GYIYSGTINYN PSLKSRVTISVDTSKNQLSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFLYWGQGLVTVSSGG GSGSGSGSGGGSEIVLTQSPGTLISLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LLYGASSRATG:PDRLFSGSGSTIDFTIIS RLEPEDFAVYYCQYDRSPLTFGGGTVKDI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFNSYAMNWVRQAPGKLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYL QMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWA YWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTV VTQEPFLTVSPGGTVTLTCCSSTGAVTSGN YPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVLPGGGGSDAHKSEVA HRFKDLGSENFKALVLAFAQYLQQCFED HVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER NECFLQHKDDNPNIPLRVRPEVDMCTAFH DNEETFLKKLYEIAARRHPYFYAPELFFFA KRYKAAFTTECCQAADKAACLPLKLDLDRDE GKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVAR LSQRFPKAEFAEVSXLVTDLTKVHTECCHG DLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKEC CEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVESKDVCKNYAEAKLVFLGMFLYEYARRE PDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQL GEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEJYLSVVLN</p>

				<p>QLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSE KERQIKKQTA.LVELVKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKLVAA SQAALCI.HHHHHE</p>
247	EGF-3	DLL3-9 x F12Q - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARI.AVAGFFFDYWGGTLVTVSSGG GGSGCGSGGGGSEI.VI.TQSPGTLSLSPGE SATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPKQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPITFGGTRIET KSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS ASGFTFNSYAMNWRQAPGKGLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYL QMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWA YWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGSGGSGTV VTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGN YFNWVQQKPKQAPRGLIGGTFKFLAPCTPAR FSGSITLGGKAALTI.SGVQPRDFARYYCVI.W YSNRWVFGGGTKLTVLPGGGGSDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLI.AFAQYLQQCFED HVKLVNEVTEFAKTCVADESSENCKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER NECFLQHXDDNPNLPRLVREVDVXCTAFH DNEETFLKKYLYE.IARRHPYFYAPELLPFA KRYKAAFT.ECCQAADKAACLLPKLDELRLDE GKASSAKQRI.KCASTQKFGFRAPKAWAVAR LSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVTECCCHG DLEECADDRADLAKY.LCENQDSISSKLEEC CFKPLI.IKXSHCTAEVFNDEMPADI.PSI.AAD FVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRH PDYSVVL.LRLAKTYETTLKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFQQL GEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCCKHFEAKRMPCAEYLSVVLN QLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSE KERQIKKQTA.LVELVKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKLVAA SQAALGLHHHHE</p>
248	EGF-3	DLL3-10 x F12Q - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGIS SYWWSWIRQPPGKGLEWIGYIFNYGITNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AKYYCARIHSGSFSFDYWDQGLTVTVSSGG GGSGGGGGGGSEI.VMTQSPGTLSLSPGE RATLSCRASQSVSRVYI.AWYQQKPKQAPRI LIYGASSRATDIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDTSPIITFGGRIKVEI KSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS ASGFTFNSYAMNWRQAPGKGLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYL</p>

				<p>QMNSLKTFDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWA YWGQGLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGSTV VTQRFPSLTVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTSGN YPNWWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPAR FSGSLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYCVLW YSNRWVFGGKLTVLPGGGSDAHKSEVA HRFKDLGEENFKALVLAFAQYLQCCPFED HVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCCKSLHT LFGDKICTVATLRETYGEMADCCAKQEPER NECFLQHKDDNPNLPRLVREVDVMCTAFH DNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELFFFA KRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDRDE GKASSAKQRLKCASIQKFGHRAFKAWAVAR LSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTGVHTECCHG DLECADDRADLAKYICENQDSISSKKEC CEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAAD FVFSKDVCKNYAEAKIVFIMGFIFYEARRH PDYSVLLLRRLAKTYETTLKCCAAADPIIE CYAKVDFEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQL GEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCCRKHEPAKRMPCAEYLSVVLN QLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAETFFHADICTLSE KERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKLVAA SQAALGLHHHEHH</p>
249	EGF-4	DLL3-13 x F12Q - HALB	биспецифическая молекула -HALB	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYIMHWVRQAPGQGLEWMGILINPSDGTNY AQNFGQGRVTMTRDTSNTVYMELESSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTVTV VSSCGCGSGCGGSGCGGSDVVMTQSPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFO QRFGQSPRRLIYKVSNWQSGVDRFSGSGS GTDFTLKI SRVEAEDVGVYFCMQGTHWPPT FGQGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSSKNTAYLQMNSLKTFDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWWAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGG SGGGGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTFK FLAPGTPARFSGSLGGKAAALTLGSGVQPEDE EAEYCVLWYSNRWVFGGKLTVLPGGGG SDAHKSHVAHRFKDLGKRNFKALVLAFAQ YLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESA ENCCKSLHTLFGDKICTVATLRETYGEMAD CCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRE VDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYF YAPELFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLL PKLDELDRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGER AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQD SISSKKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMP</p>

				ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVF LGM FLYEYARRHPDYSVLLLR LAKTYETTLEK CCAAADPHFCYAKVDFDFKPIVFEFPQNI,TK QNCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVS TPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCA EDYLSVV LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRRPCFSALEVDIYVPKEFNAETFTF HADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKA TKFQI,KAVMDDFAAFVFKCKADDKETCFA EEGKKLVAASQAALGLHHEHHH
250	EGF-4	DLL3-14 x F12Q - HALB	биспециф ическая молекула -HALB	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT NYVMHWVRQAPGLGLEWYGIINPSDGSTSY AQKFGQGRVTMTRDTSNTVYMDTSSLRSEDF TAVYYCARGGNSAFYSYDMDVWGQGTFTV VSSGGGSGGGGSGGGSDVVMTQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPQGSPRRLIYKVSXWQSGVPPDRFSGGGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQGTWHPPT FGQGTQVRIKSGGGGSFVQIVFSGGGIVQP GGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQNNSLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWWAYWGQGLVTVSSGGGSGGGG SGGGGSGTAVTQEPQLIVSPGGTVTLTCCG STGAVTSGNYPNWVQKPKGQAPRGTIGGTK FLAPGTPARFSGSLGCKAALTLSGVQPED EAEYVCVWYGNRWVFGGGTKLTVLPGGGG SDAHKSEVAHRFKDI,GFENFKALV,IAFAQ YLQQCFPEFDHVKLVNEVTEFAKTCVADESA ENCDKSLITLFGDKLIVATLRETYGEMAD CCAKQEPERNECFIQHKDDNPNLPRLVPE VDVMCTA:HDNEETFLKKYLYELARRHPYF YAPPELLFAKRYKAFTTECCQAADKAACLL PKT,DF,LRDFGKASSAKQRI,KCASI,QKFGFR AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVIITECCHGDLLECCADDRADLAKYICENQD SISSKLEKCEKPILEKSECI AEVENDEMP ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVF LGM FLYEYARRHPDYSVLLLR LAKTYETTLEK CCAAADPHFCYAKVDFDFKPIVFEFPQNI,TK QNCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVS TPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCA EDYLSVV LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRRPCFSALEVDIYVPKEFNAETFTF HADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKA TKFQI,KAVMDDFAAFVFKCKADDKETCFA EEGKKLVAASQAALGLHHEHHH
251	EGF-4	DLL3-15 x F12Q - HALB	биспециф ическая молекула -HALB	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT GYIHWVRQAPGGLLEWYGIINPSDGSTSY GQNFQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDF TAVYYCARGGNSAFYSYDMDVWGQGTFTV VSSGGGSGGGGSGGGSDVVMTQSPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLAYRDGNTYLSWFQ

				<p>QRPGQSPRRLLYKVSNNWQSGVLPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQGTHWPPT FGQGTQVRIKSGGGSEVQIVFSGGGLVQP GGSLLSLSAASGFTFNYSYAMNWRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQMNLSLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWWAYWQGTLVTVSSGGGSGGGG SGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLTGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYCVLWYSNRWVPGGKTCLTVLPGGGG SDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQ YLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESA ENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMAD CCAKQFPERNECFQHKDDNPNI.PRI.VRPF VDVMTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYF YAPELLFFAKRYKAAFTCCQADKAACLL FKLDELRLDEGKASSAKQLKCAQLQKFGER AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTLDT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQD STSKIKFCCCKP.LFKSHCTAFVFNDFMP ADLPSLAADFEVSKDVCKNYAEAKDVFLGM FLYEYARRHPDYSVVLLLR LAKTYETTELEK CCAADPHECYAKVFEDEFKPLVEEPQNLTK QNCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVS TPTLVEVSRNLGKVGSKCKKHEAKRMPCA EDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTF HADICTLSEKERQIKKQATALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDKTCFA EEGKLVAAASQAALGLHEHHH</p>
252	-	DLL3 человека	человек	<p>MVSPRMSGLLSQTVILALI FLPQIRPAGVF FI.QTHSFGPGPGAPRSPCSARI.PCRT.FF RVCLKPGLSEEAASPCALGAALSARGPVY TEQPGAPAPDLPLPDGLLQVFFRDAWPGTF SFIETWREELGDQIGGPAWSLLARVAGRR RLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYRACEP FAVGTACTRLCRPRSAPSRGPGRLRPCAPL EDEFCAPIVCRAGCSPEFGFCFQPCFCRTI EGWTGPLCTVPVSTSSCLS PRGPPSSATTGC LVPGGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTC PRGFYGLRCEVSGVTCADGPCFNGGICVGG ADPDSAYICHCPGFGQSNCEKRVDRCSLQ PCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEH ELDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSALG FGGRDCRERADPCARPCAAGGRCYAHFSG LVCACAPGYMGARCEFPVHPDGASALPAAP PGI.RPGDPQRY.TLPPAI.GI.IVAACVAGAAI. LLVHVRRRGHSQDAGSRLLAGTPEPSVHAL PDALNNLR TQEGSGDGPSSSVDWNRPEDVD PQGIYVISAPSIYAREVATELFPPLHTGRA GQRQHLLEFPYSSILSVK</p>

253	-	DLL3 ВКД человека	человек	MVSPRMSGLLSQTVILALIFLPQTRPAGVF ELQIHSFGPGPGGAPRSPCSARLPCRLFF RVCLKPGLSEEAASPCALCAALSARCPVY TEQPGAPAPDLPDGLLQVPPFRDAWPGTF SFTTETWREELGDQIGGPAWSLLARVAGRR RLAAGGPWARDLQRAGAWELRFSYRACEP PAVGTACTRLCRFRSAPSRGPGRLPCAPL EDECEAPLVCRAGCSPEHGFCQPGECRCL EGWTGPLCTVPVSTSSCLSPRGPSAATGC LVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTC PRGFYGLRCEVSCVTADGPCFNGGLCVGG ADPDSAYICHCPFGFQGSNCEKRVDRCSLQ PCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCFH DLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALG FGGRDCREADPCAARPCAAGRCYAHFSG LVCACAPGYMGARCEFPVHPDGASALPAAP PGLRPGDPCRYL
254	-	Hu DLL3 N-конец,	человек	MVSPRMSGLLSQTVILALIFLPQTRPAGVF ELQIHSFGPGPGGAPRSPCSARLPCRLFF RVCLKPGLSEEAASPCALCAALSARCPVY TEQPGAPAPDLPDGLLQVPPFRDAWPGTF SFTTETWREELGDQIGGPAWSLLARVAGRR RLAAGGPWARDLQRAGAWELRFSYR
255	-	Hu DLL3 ДСП дом	человек	ARCFPPAVGTACTRLCRFRSAPSRGPGRLR PCABLEDECE
256	-	Hu DLL3 EGF-1	человек	APLVCRAGCSPEHGFCQPGECRCLGWTG PLCT
257	-	Hu DLL3 EGF-2	человек	GGPGCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRG FYGLRCE
258	-	Hu DLL3 EGF-3	человек	SGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCP PPGFQGSNCE
259	-	Hu DLL3 EGF-4	человек	RVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAG FAGPRCE
260	-	Hu DLL3 EGF-3+4	человек	SGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCP PPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGGLCLDL GHALRCRCRAGFAGPRCE
261	-	Hu DLL3 EGF-5	человек	DLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALG FGGRDCR
262	-	Hu DLL3 EGF-6	человек	RADPCAARPCAAGRCYAHFSGLVCACAPG YMGARCE
263	-	DLL3 ВКД человека x АМЭК	искусствен ная	MVSPRMSGLLSQTVILALIFLPQTRPAGVF ELQIHSFGPGPGGAPRSPCSARLPCRLFF RVCLKPGLSEEAASPCALCAALSARCPVY TEQPGAPAPDLPDGLLQVPPFRDAWPGTF SFTTETWREELGDQIGGPAWSLLARVAGRR RLAAGGPWARDLQRAGAWELRFSYRACEP PAVGTACTRLCRFRSAPSRGPGRLPCAPL EDECEAPLVCRAGCSPEHGFCQPGECRCL EGWTGPLCTVPVSTSSCLSPRGPSAATGC LVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTC PRGFYGLRCEVSCVTADGPCFNGGLCVGG ADPDSAYICHCPFGFQGSNCEKRVDRCSLQ PCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEH

				DLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALG FCGRDCRFRADPCAARPCAAGGRCYAHFSG LVCACAPGYMGARCEFFVHDPGASALPAAP PGLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAIVVVV IAIVAGIVVLVLSRKKRMAKYEKAEIKEMG EMHRELNA
264	-	V5 x hu DLL3-ДСП x АМЭК	искусств енная	MCWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPLLGL DSTSGARCEPPAVGTACTRLCRPRRAPSRC GPGLRPCAPLEDECEAPLVCRAGCSEHGF CEQPGEERCLEGTWGLCTVPVSTSSCLSP RGPSSATTGCLVPGPGPCDGNPCANGGSCS ETPRSFECTCPRGFYGLRCEVSGVTCADGP CFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNC EKRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCR AGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGG GAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAARPCA GCRCYAHFSGLVCACAPGYMGARCEFFVEP DGASALPAAPPGLRPGDPQRYLSGGGGSGA GVIAIVVVVIAIVAGIVVLVLSRKKRMAK YEKAEIKEMGEMHRELNA
265	-	V5 x hu DLL3- EGF1 x АМЭК	искусств енная	MCWSCITLFLVATATGVHSGKPIPNPLIGL DSTSGAPLVCRAGCSEHGFCEQPGEORCL EGWTGPLCTVPVSTSSCLSPRGPSSATTGC LVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTC PRGFYGLRCEVSGVTCADGPPCFNGGLCVGG ADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQ PCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEH DLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALG EGGRDCRERADPCAARPCAAGGRCYAHFSG LVCACAPGYMGARCEFFVHDPGASALPAAP PGLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAIVVVV IAIVAGIVVLVLSRKKRMAKYEKAEIKEMG EMHRELNA
266	-	V5 x hu DLL3- EGF2 x АМЭК	искусств енная	MCWSCITLFLVATATGVHSGKPIPNPLIGL DSTSGGPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFEC TCPRGFYGLRCEVSGVTCADGPPCFNGGLCV GGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCS LQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRC EHLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCA LGFGRDCRERADPCAARPCAAGGRCYAHF SGLVCACAPGYMGARCEFFVHDPGASALPA APPGLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAIVV VVIAIVAGIVVLVLSRKKRMAKYEKAEIKE MGLMHRELNA
267	-	V5 x hu DLL3- EGF3 x АМЭК	искусств енная	MCWSCIIILFLVATATGVHSGKPIPNPLLGL DSTSGCVTCADGPPCFNGGLCVGGADPDSA YICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGG LCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCA GRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDC RERADPCAARPCAAGGRCYAHFSGLVCACA PGYMGARCEFFVHDPGASALPAAPPGLRPG DPQRYLSGGGGSGAGVIAIVVVVIAIVAG IVVLVLSRKKRYAKYEKAEIKEMGEMHREL

				NA
268	-	V5 x hu DLL3- EGF4 x AMOK	искусств енная	MGWSCIILFLVATATGVHSGKPIPNPLLGL DSTSGRVDRCSLQPCRNGLCLDLGHALRC RCRAGFAGPRCEHLDLDCAGRACANGGDCV EGGGAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAAR CAIIGSRCYAIFSGGLVCACAPGYMGARCEFP VHPDGASALPAAPPGLRPGDPQRYLSGGGG SGAGVIAVIVVVVIAIVAGIVVLVISRKKR MAKYEKAEIKEMGEMHRELNA
269	-	V5 x hu DLL3- EGF5 x AMOK	искусств енная	MGWSCIILFLVATATGVHSGKPIPNPLLGL DSTSGDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRC SCALGFGGRDCRERADPCAARPCAHGGRCY AHFSGLVACACAPGYMGARCEFPVHPDGASA LPAAPPGLRPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAV IVVVVIAIVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAE IKEMGEMHRELNA
270	-	V5 x hu DLL3- EGF6 x AMOK	искусств енная	MGWSCIILFLVATATGVHSGKPIPNPLLGL DSTSGRADPCAARPCAHGGRCYAHFSGLV ACAPGYMGARCEFPVHPDGASALPAAPPGL RPGDPQRYLSGGGGSGAGVIAVIVVVVIAI VAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMH RELNA
271	-	DLL3 макака	яванец	MVSPRMSRLLSQTVILALIFIPQARPAGVF ELQIHSFGPGPGFAGAPRSPCSARGPCRLFF RVCLKPGLSEEAASPCALGAALSARGPVY TEQPEAPA?DLPLPGLLQVPPFRDWPPTF SLIETWREELGDQIGCPAWSLLARVTRRR RLAAGGPWARDQIRAGAWELRFSYRARC ELPVGACTRLCRFRSAPSRCPGLRPCAPL EDECEAPPVCRAGCSLEHGFCEQPGECRCL EGWTGPLCMVPASTSSCLGLRGPSSATTCG LVPGPGLCDGNPCANGGSCSETPGSFCTC PRGFYGLRCEVSGVTADGPCFNGLCVGG ADPDSAYICHCPFGFGSNCEKRVDRCSLQ PCRNGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEH NLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALG EGGRDCRERADPCAARPCAHGGRCYAHFSG IVCACAPGYMCSRCEFPVHPDGVSALPAAP PGLRPGDPQRYLLPPALGLVAAGVAGAAL LLVHVRRRGHAQDAGSRLLAGTPE?SVHAL PDALNNQRTQEGPGDVPSSVVDWNRPEDVD SRGIYVISAPSYAREA
272	-	DLL3 ВКД макака	яванец	MVSPRMSRLLSQTVILALIFIPQARPAGVF ELQIHSFGPGPGFAGAPRSPCSARGPCRLFF RVCLKPGLSEEAASPCALGAALSARGPVY TEQPEAPA?DLPLPGLLQVPPFRDWPPTF SLIETWREELGDQIGCPAWSLLARVTRRR RLAAGGPWARDQIRAGAWELRFSYRARC ELPVGACTRLCRFRSAPSRCPGLRPCAPL EDECEAPPVCRAGCSLEHGFCEQPGECRCL EGWTGPLCMVPASTSSCLGLRGPSSATTCG LVPGPGLCDGNPCANGGSCSETPGSFCTC PRGFYGLRCEVSGVTADGPCFNGLCVGG

				ADPDSAYICICPPGFQGSNCEKRVDRCSLQ PCRNGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEH NLDDCAGRACANGGTVEGGGAHRCSCALG EGGRDCREERADPCAAARPCAHGGRCYAHFSG LVCACAPGYMGSRCFFVHPDGVSAALPAAP PGLRPGDPQRYL
273	-	Ma DLL3 N-конец.	яванец	MVSPRMSRLLSQTVIILALFTFPQARPAGVF ELQIHSFGPGPGFAGAPRSPCSARGPCRLFF RVCLKPGLSEEAESPCALGAALSARGPVY TEQPEAPAPDLPLPNGLLQVPPFRDAWPGTF SLIETWREELGDQIGGPAWSLLARVTRRR RLAAGGPWARDQORAGAWELRFSYR
274	-	Ma DLL3 ДСП дом.	яванец	ARCELPVGTACTRLCRPRSAPSRGCGPLR PCAPLEDECE
275	-	Ma DLL3 EGF-1	яванец	APPVCRAGCSLEHGFCQPGECRCLEGTG PLCM
276	-	Ma DLL3 EGF-2	яванец	GGPCDGNPCANGGSCSETPGSFECTCPRG FYGLRCE
277	-	Ma DLL3 EGF-3	яванец	SCVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICEC PPGFQGSNCE
278	-	Ma DLL3 EGF-4	яванец	RVDRCSLQPCRNGLCLDLGHALRCRCRAG FAGPRCE
279	-	Ma DLL3 EGF-3+4	яванец	SCVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICEC PPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGLCLDL GHALRCRCRAGFAGPRCE
280	-	Ma DLL3 EGF-5	яванец	NLDDCAGRACANGGTVEGGGAHRCSCALG EGGRDCR
281	-	Ma DLL3 EGF-6	яванец	RADPCAAARPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPG YMGSRCE
282	-	Ma DLL3 ECD x AMЭК	искусств енная	MVSPRMSRLLSQTVIILALFTFPQARPAGVF ELQIHSFGPGPGFAGAPRSPCSARGPCRLFF RVCLKPGLSEEAESPCALGAALSARGPVY TEQPEAPAPDLPLPNGLLQVPPFRDAWPGTF SLIETWREELGDQIGGPAWSLLARVTRRR RLAAGGPWARDQORAGAWELRFSYR ARCELPVGTACTRLCRPRSAPSRGCGPLR PCAPLEDECE APPVCRAGCSLEHGFCQPGECRCLEGTG PLCM GGPCDGNPCANGGSCSETPGSFECTCPRG FYGLRCE SCVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICEC PPGFQGSNCE RVDRCSLQPCRNGLCLDLGHALRCRCRAG FAGPRCE SCVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICEC PPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGLCLDL GHALRCRCRAGFAGPRCE NLDDCAGRACANGGTVEGGGAHRCSCALG EGGRDCR RADPCAAARPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPG YMGSRCE
283	-	DLL1 человека	человек	MGSRCALALAVLSALLCQVWSSGVFELKLQ EFVNKKGLLGNRNCCRGAGPPPCACRFFF RVCLKHYQASVSEPPCTYGSAVTFLVGV SFLPDGGGADSAFNSPIRFPFGTWP SLIETWREELGDQIGGPAWSLLARVTRRR RLAAGGPWARDQORAGAWELRFSYR

				RHLTVGEEWSQDLIISGRCDLKYSYRFVCD EHYYGEGCSVFCRPRDDAFCHFTCGERCEK VCNPGWKGPYCTFPTCI.PGCDFOHGFCDKP GECKCRVWQGRYCDCECIRYPGCLHGTCCQ PWQCNCQEGWGLFCNQDLNYCTIIHKPCKN GATCTNTGQGSYTCSCRPGYTGATCELGID RCDPSPCKNGGSCDTI.FNSYSCTCP.PG.FYG KICELSAMTCADGPCFNGGRCSDES.PGGYS CRCPVGYSGFNCEKKIDYCSSSPCSNAGKC VDLGDAYLCRCQAGFSGRICDDNVDDCASS PCANGGTCTCQGVNDFSTCTCPPGYTGRNCSA PVSRCCEHAPCHNGATCHERGHRYVCECARG YGGPNCQFLLPELPPGFVVDLTEKLEGGG GPPFWAVACAGVILVLMMLLGC.AAVVVCVR LRLQKHRP?ADPCRGETE?MNNLANCQREK DTSVSTIGATQTKNTNKKADFGDHSADKN GFKARYPAVDYKLVQDLKGGDTAVRDAHSK RDCKCQPQSSGEEKGTPTILRGGEASERK RPDGGCSTSKDTKYQSVYVISEEKDECVIA TEV
284	-	DLL4 человека	человек	MAAASRSASCWAIL.I.I.VAI.WQRAAGSCVF QLQLQEFINERGVLASGRPCPEPCRTFFRV CLKEFQAVVSPGPCTFGTVSTPV.LGTNSFA VRDSSGGGRNPLQLP.FNFTWPGTFSLEIE AWHAPGDDLRPEALP?DALISKIAIQCSLA VGQNWLLDEQSTLTLRLRYSYRVICSDNYY GDNC.SRLCKKRNDFGHYVCPDGNLSCLP GWTGEYCCQFICLSGCHEQNGYCSKPAECL CRPGWQGR.LCNECIPHNGCRHGTCTPWQC TCD.FGWGGL.FCDQD.NYCTHHS.PCKNCATC SNSGQRSYTCICRPGYTGVDCELELSECD NPCRNGGSKDQEDGYHCLCPPGYGLHCE IISTLSCADSPC.FNGGSCRERNQGANACEC PFNFTGSNCEKKVDRCTS.NPCANGGQCLNR GPSRMCRCPGFTGT.YCELHVSDCARNPCA HGGTCHDLENGLMCTCFAGFSGRRCEVRTS IDACASSPCFN.RATCYTDLSTDT.FVCNCPY GFVGSRC.EFFVGLP.PS.FPWAVS.LGVGLAV I.I.VI.I.GMVAVAVRQ.LRI.RRPD.DGSRRAMN LSD.FQKDNLI.PAAQLKNTNQKKELEVDCGL DKSNCGKQGNH.TLDYNLAFGLGRGTMFGK EPHS.DKSLGEKAPLR.LHSEKPECRISATCS PRDS.YYQSVCLISEERNECVIATEV
285	-	линкер 1	искусств енная	GGGG
286	-	линкер 2	искусств енная	GGGGS
287	-	линкер 3	искусств енная	GGGGQ
288	-	линкер 4	искусств енная	SCGGCS
289	-	линкер 5	искусств енная	PGGGGS

290	-	линкер 6	искусственная	PGGDGS
291	-	линкер 7	искусственная	GGGSGGGGS
292	-	линкер 8	искусственная	GGGSGGGGS
293		линкер 9	искусственная	GGGSGGGSGGGGS
294	-	Гексahis	искусственная	HHHHH
295	-	Ab156	искусственная	RDWDFDVFGGTPVGG
296	-	линейный FcRn BP	искусственная	QRFVTGHFGGLXPANG
297	-	линейный FcRn BP-Y	искусственная	QRFVTGHFGGLYPANG
298	-	линейный FcRn BP-H	искусственная	QRFVTGHFGGLHPANG
299		ядерный FcRn BP-H	искусственная	TGHFGGLHP
300		циклический FcRn BP-H	искусственная	QRFCTGHFGGLHPCNG
301	-	HALB	человек	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAPAY LQQCFEEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES NCDKSLHTLFCDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKDDNPNLRLVRFV DVMCTAFHDNEETFLKLYEIAARRPYFY APELFFAKRYKAAFTCCQAADKAACLLP KLDELRLDEGKASSAKQRLKCASTQKFGERA FKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGDIJFCADDRADIAKYTCNQDS TSSKIKFCCFKPIJFKSHCTAEVNDMPA DLPSLAADFVESEKDVCKNYAEAKLVFLGMF JYFYARRHPDYSVVLIJRIAKTYETLEK CAAADPHHCYAKVDFKFKPIVHHPQNIJQ NCELEEQLEGEYKFNALLVRYTKVQVST PTJVFVSRNIGKVGSKCKHPRAKRMPCAE DYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETPTFH ADICTLSEKERQIKKQATALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDJFAAFVEKCKKADDKETCAE EGKKLVAASQAALGL
302	-	HALB вариант 1	искусственная	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAPAY LQQCFEEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES NCDKSLHTLFCDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKDDNPNLRLVRFV DVMCTAFHDNEETFLKLYEIAARRPYFY APELFFAKRYKAAFTCCQAADKAACLLP KLDELRLDEGKASSAKQRLKCASTQKFGERA

				<p>EKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGDIJFCADDRADI AKYICENQDS ISSKLECCCKP LLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVE SKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDY SVVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCELEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYL SVVLLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFH ADICTLSEKERQIKKQATVELVKHKPKAT KEQLKAVMDFFAAFVEKCKCKADDKETCFAE EGKLVVAASQAALGL</p>
303	-	НАЛВ вариант 2	искусств енная	<p>DAHKSEVAHRFKDLGEEFKALVLI AFAQY LQQCFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES AE NCDKSLHTLFGDKLCTVACLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLOHKDENPNLPRLVREPEV DVMCTAFHNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELFFAKRYKAAETECCQAADKAACLLP KLDELDRDEGKASSAKORLKCASLQKFGERA EKAWAVARI,SQRFPKAEFAFVSKLVTDLTK VHTECCHGELLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLECCCKP LLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVE SKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDY SVVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCELEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYL SVVLLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFH ADICTLSEKERQIKKQATVELVKHKPKAT KEQLKAVMDFFAAFVEKCKCKADDKETCFAE EGPKLVVAASQAALGL</p>
304	-	НАЛВ вариант 3	искусств енная	<p>DAHKSEVAHRFKDLGEEFKALVLI AFAQY LQQCFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES AE NCDKSLHTLFGDKLCTVACLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLOHKDENPNLPRLVREPEV DVMCTAFHNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELFFAKRYKAAETECCQAADKAACLLP KLDELDRDEGKASSAKORLKCASLQKFGERA EKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGELLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLECCCKP LLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVE SKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDY SVVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCELEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYL SVVLLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFH ADICTLSEKERQIKKQATVELVKHKPKAT KEQLKAVMDFFAAFVEKCKCKADDKETCFAE EGPFLVAASKAALGL</p>

305	-	НАЛВ вариант 4	искусств енная	<p>DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQY LQQCFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES SAE NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLOHKDNDPNLPRLVREPV DVMCTAFHDNEETFLKKYL YEIARRHPYFY APELFFAKRYKAAFECCQAADKAACLLP KLDELDRDEGKASSAKORLKCASLQKFGERA FKAWAVARI.SQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGELLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DLP SLAADFVFSKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDY SVVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCELFELQGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYL SVVLLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCES LVNRRPCFSALDVDETYVPKFNAEFTFH ADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDKFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGPKLVAASQAALGL</p>
306	-	НАЛВ вариант 5	искусств енная	<p>DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQY LQQCFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES SAE NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLOHKDNDPNLPRLVREPV DVMCTAFHDNEETFLKKYL YEIARRHPYFY APELFFAKRYKAAFECCQAADKAACLLP KLDELDRDEGKASSAKORLKCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGELLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DLP SLAADFVFSKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDY SVVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCELFELQGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYL SVVLLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCES LVNRRPCFSALDVDETYVPKFNAEFTFH ADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDKFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGPKLVAASQAALGL</p>
307	-	НАЛВ вариант 6	искусств енная	<p>DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQY LQQCFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES SAE NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLOHKDNDPNLPRLVREPV DVMCTAFHDNEETFLKKYL YEIARRHPYFY APELFFAKRYKAAFECCQAADKAACLLP KLDELDRDEGKASSAKORLKCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGELLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DLP SLAADFVFSKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDY SVVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ</p>

				NCELFEQ_LGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTI.VFVSRNI.GKVGSKCCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDKFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGPHLVAASQAALGL
308	-	НАЛВ вариант 7	искусств енная	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV_LIAFAQY LQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKDNPRLVLRPEV DVYCTAFHDNEETFLLKLYE.IARRHPYFY APELFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLP KLDELDRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAVSKLVTDLTK VHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCELFEQ_LGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDKFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGPHLVAASKAALGL
309	-	НАЛВ вариант 8	искусств енная	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV_LIAFAQY LQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKDNPRLVLRPEV DVYCTAFHDNEETFLLKLYE.IARRHPYFY APELFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLP KLDELDRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAVSKLVTDLTK VHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCELFEQ_LGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDKFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGPKLVAASKAALGL
310	-	НАЛВ вариант 9	искусств енная	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV_LIAFAQY LQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKDNPRLVLRPEV DVYCTAFHDNEETFLLKLYE.IARRHPYFY APELFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLP

				<p>KLDELRLDEGKASSAKORLKCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAVSKLVTDLTK VHTCCCHGELLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVLGMF LYEYARRHPDYSSVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHCYAKVFDEFKPLVEEPQNLTKQ NCELFEQJGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALDVEDETYVPKEFNAETFFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGPKLVAASKAALGL</p>
311	-	НАЛБ вариант 10	искусств енная	<p>DAHKSEVAHRFRDLGFEENFKALVJLAFAYQY LQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAAE NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKDNPPLPRLVLRPEV DVMCTAFHENEETFLKKLYEIAARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLP KI.DFI.RDFGKASSAKQRI.KCAST.QKFCFRA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTCCCHGELLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVLGMF LYEYARRHPDYSSVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHCYAKVFDEFKPLVEEPQNLTKQ NCELFEQJGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALDVEDETYVPKEFNAETFFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGKLLVAASQAALGL</p>
312	-	НАЛБ вариант 11	искусств енная	<p>DAHKSEVAHRFRDLGFEENFKALVJLAFAYQY LQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAAE NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKDNPPLPRLVLRPEV DVMCTAFHENEETFLKKLYEIAARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLP KLDELRLDEGKASSAKORLKCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTCCCHGELLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVLGMF LYEYARRHPDYSSVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHCYAKVFDEFKPLVEEPQNLTKQ NCELFEQJGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALDVEDETYVPKEFNAGTFFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAE</p>

				EGKKLVAASQAALGI, DAHKSEVAHRFKDLGEEFNFKALVLI AFAQY LQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES NCDKSLFTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFIQEKDDNPXLPRLV3PEV DVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLEFAKRYKAAFTCCQAADKAACLLP KLDLDRDEGKASSAKQRLXCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLECCCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVLGMF LYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETLEKC CAAADPEECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQ NCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCCXHPKAKRMPCAE DYL3VVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDFTYVPKEFNAETFFH ADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAEVEKCCADDKETCFAE EGPKLVAASQAALGL
313	-	HALB вариант 12	искусств енная	EGKKLVAASQAALGI, DAHKSEVAHRFKDLGEEFNFKALVLI AFAQY LQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES NCDKSLFTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFIQEKDDNPXLPRLV3PEV DVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLEFAKRYKAAFTCCQAADKAACLLP KLDLDRDEGKASSAKQRLXCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLECCCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVLGMF LYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETLEKC CAAADPEECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQ NCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCCXHPKAKRMPCAE DYL3VVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDFTYVPKEFNAETFFH ADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAEVEKCCADDKETCFAE EGPKLVAASQAALGL
314	-	HALB вариант 13	искусств енная	EGPHLVAASKAALGI, DAHKSEVAHRFKDLGEEFNFKALVLI AFAQY LQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES NCDKSLFTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFIQEKDDNPXLPRLV3PEV DVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLEFAKRYKAAFTCCQAADKAACLLP KLDLDRDEGKASSAKQRLXCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLECCCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVLGMF LYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETLEKC CAAADPEECYAKVDEFKPLVEEPQNLIKQ NCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCCXHPKAKRMPCAE DYL3VVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDFTYVPKEFNAETFFH ADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAEVEKCCADDKETCFAE EGPHLVAASKAALGI
315	-	HALB вариант 14	искусств енная	EGPHLVAASKAALGI, DAHKSEVAHRFKDLGEEFNFKALVLI AFAQY LQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES NCDKSLFTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFIQEKDDNPXLPRLV3PEV DVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLEFAKRYKAAFTCCQAADKAACLLP KLDLDRDEGKASSAKQRLXCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCGDLLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLECCCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVLGMF LYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETLEKC

				CAAADPHCYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCFI.FFQI.GFYKFQNAI.IVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCCTES LVNRRPCFSALGVDETYVPKEFNAETFFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDKFAAFVEKCKKADDKETCFAE RCPKLVAAASQAALGL
316	-	НАЛВ вариант 15	искусств енная	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQY LQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADES AE NCDKSLHTLFGDKLCTVA TLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKD ENPNL PRLV RPEV DVMCTAFHDNEETF LKKYLYE IARRHPYFY APEL LFFAKRYKAAFT ECCCQAADKAACLLP KIDELRDEGKASSAKQRI.KCASI.QKFGERA EKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDY SVVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHCYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCELFEQI.GEYKFQNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCCTES LVNRRPCFSALGVDETYVPKEFNAETFFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDKFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGPKLVAAASQAALGL
317	-	НАЛВ вариант 16	искусств енная	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQY LQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADES AE NCDKSLHTLFGDKLCTVA TLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKD ENPNL PRLV RPEV DVMCTAFHDNEETF LKKYLYE IARRHPYFY APEL LFFAKRYKAAFT ECCCQAADKAACLLP KLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERA EKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDY SVVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHCYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCELFEQI.GEYKFQNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCCTES LVNRRPCFSALGVDETYVPKEFNAETFFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDKFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGPKLVAAASQAALGL
318	-	НАЛВ вариант 17	искусств енная	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQY LQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADES AE NCDKSLHTLFGDKLCTVA TLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKD ENPNL PRLV RPEV DVMCTAFHDNEETF LKKYLYE IARRHPYFY

				<p> APELLFFAKRYKAAFFECCQAADKAACLLP KI.DELRDEGKASSAKQRI.KCASI.QKFCFRA EKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTCCCHGELLECCADDRADLAKYICENQDS ISSKLECECEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHDDYSVVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHFCYAKVDFEFKPLVEEPQNLTKQ NCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMLKFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGPRLVAASKAALGL </p>
319	-	HALB вариант 18	искусств енная	<p> DAHKSEVAHRFKDLGEEFKALVLI AFAQY LQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES NCDKSLHTLFCGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLOHKDNPRLVREPEV DVYCTAFHIDNEETFLKKYL YEIARRIIPYFY APELLFFAKRYKAAFFECCQAADKAACLLP KLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERA EKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTCCCHGELLECCADDRADLAKYICENQDS ISSKLECECEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHDDYSVVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHFCYAKVDFEFKPLVEEPQNLTKQ NCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMLKFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGPRLVAASKAALGL </p>
320	-	HALB вариант 19	искусств енная	<p> DAHKSEVAHRFKDLGEEFKALVLI AFAQY LQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES NCDKSLHTLFCGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLOHKDNPRLVREPEV DVYCTAFHIDNEETFLKKYL YEIARRIIPYFY APELLFFAKRYKAAFFECCQAADKAACLLP KLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERA EKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTCCCHGELLECCADDRADLAKYICENQDS ISSKLECECEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHDDYSVVLLRLAKTYETTLEKC CAAADPHFCYAKVDFEFKPLVEEPQNLTKQ NCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT </p>

				KEQLKAVMDJFAAFVEKCKKADDKETCFAE RCPKIVAASKAALG.
321	-	НАЛВ вариант 20	искусств енная	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIJAFQY LQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLOHKDNDNPNLRLV RPEV JVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFY APELFFAKRYKAAFECCQAADKRAACLLP KLDELDRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGELLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLECCCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA JLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHEDYSVVLRLRLAKTYETTLK CAAADPHECYAKVFDEFKPIVVEEPQNLKQ NCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLKGVGSKCKHPEAKRMPCAE DYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAGTFTFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDJFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGKKLVAASQAALG.
322	-	НАЛВ вариант 21	искусств енная	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIJAFQY LQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLOHKDNDNPNLRLV RPEV JVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFY APELFFAKRYKAAFECCQAADKRAACLLP KLDELDRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGELLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLECCCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA JLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHEDYSVVLRLRLAKTYETTLK CAAADPHECYAKVFDEFKPIVVEEPQNLKQ NCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLKGVGSKCKHPEAKRMPCAE DYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAGTFTFH ADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDJFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGKKLVAASQAALG.
323	-	НАЛВ вариант 22	искусств енная	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIJAFQY LQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLOHKDNDNPNLRLV RPEV JVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFY APELFFAKRYKAAFECCQAADKRAACLLP KLDELDRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGELLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLECCCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA JLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF

				LYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLKCC CAAADPHFCYAKVDFDFKPIVFFPQNI.FKQ NCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFH ADICTLSEKERQIKKQATLVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCCCKADDKETCFAE EGPKLVAASQAALGL
324	-	НАЛВ вариант 23	искусств енная	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV.LIAFAQY LQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAAE NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLOHKDNPPLPRLVRPEV DVMCTAFHDNEETFLLKLYE.IARRHPYFY APEL.LFFAKRYKAAFTCCQAADKAACLLP KLDELDRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA EKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLECCCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLKCC CAAADPHFCYAKVDFDFKPIVFFPQNI.FKQ NCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFH ADICTLSEKERQIKKQATLVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCCCKADDKETCFAE EGPKLVAASQAALGL
325	-	НАЛВ вариант 24	искусств енная	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV.LIAFAQY LQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAAE NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLOHKDNPPLPRLVRPEV DVMCTAFHDNEETFLLKLYE.IARRHPYFY APEL.LFFAKRYKAAFTCCQAADKAACLLP KLDELDRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA EKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLECCCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYETTLKCC CAAADPHFCYAKVDFDFKPIVFFPQNI.FKQ NCELFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFFH ADICTLSEKERQIKKQATLVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCCCKADDKETCFAE EGPKLVAASQAALGL
326	-	НАЛВ вариант 25	искусств енная	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALV.LIAFAQY LQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAAE NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLOHKDNPPLPRLVRPEV

				<p>DVMCTAFHNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELFFAKRYKAAFTFCCQAADKAACLLP KLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA EKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGELLECADRADLAKYICENQDS ISSKLECCCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVEISKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSVVLLLRILAKTYETTLKCK CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCELEFQLEGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYL SVVLNQLCVLHERTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFH ADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDKFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGPKLVAASQAALGL</p>
327	-	НАЛВ вариант 26	искусств енная	<p>DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQY LQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAE NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNNECFLOHKDENPNLPRLVREPV DVMCTAFHNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELFFAKRYKAAFTFCCQAADKAACLLP KLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA EKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGELLECADRADLAKYICENQDS ISSKLECCCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVEISKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSVVLLLRILAKTYETTLKCK CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCELEFQLEGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYL SVVLNQLCVLHERTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFH ADICTLSEKERQIKKQALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDKFAAFVEKCKKADDKETCFAE EGPKLVAASQAALGL</p>
328	-	НАЛВ вариант 27	искусств енная	<p>DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQY LQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAE NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNNECFLOHKDENPNLPRLVREPV DVMCTAFHNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELFFAKRYKAAFTFCCQAADKAACLLP KLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA EKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGELLECADRADLAKYICENQDS ISSKLECCCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVEISKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSVVLLLRILAKTYETTLKCK CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCELEFQLEGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYL SVVLNQLCVLHERTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFH</p>

				ADICTLSEKERQIKKOTALVELVKKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDKETCFAE EGPELVAAASKAALGL
329	-	НАЛВ вариант 28	искусств енная	DAHKSEVAHRFKDLGEEFNKALVLI AFAQY LQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKDNDPNLRLVLRPEV DVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFY APELFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLP KLDELDRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGELLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLEKCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSSVVLRLAKTYETTLEK CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCELEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALVDVETVVPKEFNAETTFH ADICTLSEKERQIKKOTALVELVKKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDKETCFAE EGPKLVAAASKAALGL
330	-	НАЛВ вариант 29	искусств енная	DAHKSEVAHRFKDLGEEFNKALVLI AFAQY LQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKDNDPNLRLVLRPEV DVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFY APELFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLP KLDELDRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTK VHTECCHGELLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLEKCEKPLEKSHCIAEVENDEMPA DLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSSVVLRLAKTYETTLEK CAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQ NCELEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES LVNRRPCFSALVDVETVVPKEFNAETTFH ADICTLSEKERQIKKOTALVELVKKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDKETCFAE EGPKLVAAASKAALGL
331	-	Кросс- тело 1 Тяжелая цепь, ТЦ (НС)	искусств енная	ASTKGPSVFFLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPVAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLCTQTYICNVNHNKPS NIKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYG STYRCVSVLTVLEQDWWLNGKEYKCKVSNKA LPAPTEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYDTTPPVLDSDGSEFLYSDLTVDKSRW

				QQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
332	-	Кросс- тело 1 Легкая цепь, ЛЦ (LC)	искусств енная	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNXNKYAASSYLSLTPQWKSHERSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSJKTHTCPFCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTIPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSQGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
333	-	Кросс- тело 2 ТЦ	искусств енная	ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVCHKPSNTKVDKTVPEPKSKDKTHTCPPCPAEPAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTIPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
334	-	Кросс- тело 2 ЛЦ	искусств енная	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNXNKYAASSYLSLTPQWKSHERSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSSEPKSSDKTHTCPFCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTIPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSQGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
335	-	Гетеро- Fc связываю щий агент Fc	искусств енная	DKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTIPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSQGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
336	-	Гетеро- Fc партнер Fc	искусств енная	DKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTIPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

337	-	Максимо- тело 1 целевой Fc	искусствен- ная	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPCSEEQYGSTYRCVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPLEKT LSKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTT PVLKSDGSPFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
338	-	Максимо- тело 1 CD3 Fc	искусствен- ная	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPCSEEQYGSTYRCVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPLEKT LSKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTT PVLSDGSPFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
339	-	Максимо- тело 2 целевой Fc	искусствен- ная	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPLEKT LSKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTT PVLKSDGSPFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
340	-	Максимо- тело 2 CD3 Fc	искусствен- ная	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPLEKT LSKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTT PVLSDGSPFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
341	-	Моно Fc	искусствен- ная	APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPLEKTLISKAKGQPREPQVTT LPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYDTTTPVLDSDGSPFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
342	-	CDR-L1 F6A	искусствен- ная	GSSTGAVTSGYYPN
343	-	CDR-L2 F6A	искусствен- ная	GTKFLAP
344	-	CDR-L3 F6A	искусствен- ная	ALWYSNRWV
345	-	CDR-H1 F6A	искусствен- ная	IYAMN
346	-	CDR-H2 F6A	искусствен- ная	RTRSKYNNYATYYADSVKS
347	-	CDR-H3 F6A	искусствен- ная	HGNFCNSYVVSFFAY

348		VH F6A	искусственная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN IYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKSRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYVSFFAYWGQGT LTVVSS
349		VL F6A	искусственная	QTVVITQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVT SGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGT PARFSGSLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYC ALWYSNRWVFGGKTLTVL
350		VH-VL F6A	искусственная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN IYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKSRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYVSFFAYWGQGT LTVVSSCGCGSGCGGSGCGGSSQTVVITQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWV QKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGS LLGCKAAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYS NRWVFGGKTLTVL
351		CDR-L1 H2C	искусственная	GSSTGAVTSGYYPN
352		CDR-L2 H2C	искусственная	GTFKFLAP
353		CDR-T3 H2C	искусственная	ALWYSNRWV
354		CDR-H1 H2C	искусственная	KYAMN
355		CDR-H2 H2C	искусственная	RIRSKYNNYATYYADSVKD
356		CDR-H3 H2C	искусственная	HGNFGNSYISYWAY
357		VH H2C	искусственная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVVSS
358		VL H2C	искусственная	QTVVITQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVT SGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGT PARFSGSLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYC ALWYSNRWVFGGKTLTVL
359		VH-VL H2C	искусственная	FVQLVFSGGGIWQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVVSSGGGSGGGGSGGGSSQTVVITQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWV QKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGS LLGCKAAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYS NRWVFGGKTLTVL
360		CDR-L1 H1E	искусственная	GSSTGAVTSGYYPN
361		CDR-L2 H1E	искусственная	GTFKFLAP

362		CDR-L3 H1E	искусств енная	ALWYSNRWV
363		CDR-H1 H1E	искусств енная	RYAMN
364		CDR-H2 H1E	искусств енная	RIRSKYNNYATYYADSVKG
365		CDR-H3 H1E	искусств енная	HGNFGNSYLSFWAY
366		VH H1E	искусств енная	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFN RYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGT LVVSS
367		VL H1E	искусств енная	QTVVTVQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVT SGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGT PARFSGSLGGKAAALTSVQVPEDEAEYYC ALWYSNRWVFGGGTKLTVL
368		VH-VL H1E	искусств енная	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFN RYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGT LVVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGSTVTVQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQ KPGQAPRGLIGGTFKFLAPGT PARFSGSLGGKAAALTSVQVPEDEAEYYC ALWYSNRWVFGGGTKLTVL
369		CDR-L1 G4E	искусств енная	GSSTGAVTSGYYPN
370		CDR-L2 G4E	искусств енная	GTFKFLAP
371		CDR-L3 G4E	искусств енная	ALWYSNRWV
372		CDR-H1 G4E	искусств енная	RYAMN
373		CDR-H2 G4E	искусств енная	RIRSKYNNYATYYADSVKG
374		CDR-H3 G4E	искусств енная	HGNFGNSYLSYFAY
375		VH G4E	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN RYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYLSYFAYWGQGT LVVSS
376		VL G4E	искусств енная	QTVVTVQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVT SGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGT PARFSGSLGGKAAALTSVQVPEDEAEYYC ALWYSNRWVFGGGTKLTVL
377		VH-VL G4E	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN RYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYLSYFAYWGQGT LVVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGSTVTVQEP SL

				TVSPGGTVTLICGSSTGAVTSGYYPNWVQQ KPGQAPRGLICGTFKFLAPGTPARFSGSLLG GKAAITLISGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVF GGGKLTVL
378		CDR-L1 A2J	искусств енная	RSSTGAVTSGYYPN
379		CDR-L2 A2J	искусств енная	ATDMRPS
380		CDR-L3 A2J	искусств енная	ALWYSNRWV
381		CDR-H1 A2J	искусств енная	VYAMN
382		CDR-H2 A2J	искусств енная	RIRSKYNNYATYYADSVKK
383		CDR-H3 A2J	искусств енная	HGNFGNSYLSWWAY
384		VH A2J	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN VYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKKRFIISRDDSKNIAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYLSWWAYWGQGTI VTVSS
385		VL A2J	искусств енная	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCRSSTGAVT SGYYPNWVQKPGQAPRGLIGATDMRPSGT PARFSGSLGGKAAITLSGVQPEDEAEYYC ALWYSNRWVFEGGKLTVL
386		VH-VL A2J	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN VYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKKRFIISRDDSKNIAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYLSWWAYWGQGTI VTVSSGGGGSGGGSGGGGQTVVTQEPSTL TVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQQ KPGQAPRGLIGATDMRPSGIPARFSGSLLG GKAAITLSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVF GGGKLTVL
387		CDR-L1 E1L	искусств енная	GSSSTGAVTSGYYPN
388		CDR-L2 E1L	искусств енная	GTKFLAP
389		CDR-L3 E1L	искусств енная	ALWYSNRWV
390		CDR-H1 E1L	искусств енная	KYAMN
391		CDR-H2 E1L	искусств енная	RIRSKYNNYATYYADSVKS
392		CDR-H3 E1L	искусств енная	HGNFGNSYTSYYAY
393		VH E1L	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKSRFTISRDDSKNIAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYTSYYAYWGQGTI VTVSS
394		VL E1L	искусств	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTCAVT

			енная	SGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGT PARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYC ALWYSNRWVFGGGTKLTVL
395		VH-VL E1L	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKSRFTISRDDSNTAYLQMNLIK EDTAVYYCVREGNFGNSYTSYYAYWQQCTL VTVSSGGGGSGGGGGGGGSSQTVVVTQEPSL TVSPGGTVTLCRSTTGAVTSGYYPNWVQQ KPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLG GKAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWV FGGGTKLTVL
396		CDR-I1 E2M	искусств енная	RSSSTGAVTSGYYPN
397		CDR-I2 E2M	искусств енная	ATDMRPS
398		CDR-I3 E2M	искусств енная	ALWYSNRWV
399		CDR-H1 E2M	искусств енная	GYAMN
400		CDR-H2 E2M	искусств енная	RIRSKYNNYATYYADSVK
401		CDR-H3 E2M	искусств енная	ERKFGNSYLSWFAY
402		VH E2M	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN GYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKERFTISRDDSNTAYLQMNLIK EDTAVYYCVRHRNFGNSYLSWFAYWQQCTL VTVSS
403		VL E2M	искусств енная	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLCRSTTGAVT SGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGATDMRPSGT PARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYC ALWYSNRWVFGGGTKLTVL
404		VH-VL E2M	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN GYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKERFTISRDDSNTAYLQMNLIK EDTAVYYCVRHRNFGNSYLSWFAYWQQCTL VTVSSGGGGSGGGGGGGGSSQTVVVTQEPSL TVSPGGTVTLCRSTTGAVTSGYYPNWVQQ KPGQAPRGLIGATDMRPSGTPARFSGSLLG GKAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWV FGGGTKLTVL
405		CDR-I1 F7O	искусств енная	GSSTGAVTSGYYPN
406		CDR-I2 F7O	искусств енная	GTFKFLAP
407		CDR-I3 F7O	искусств енная	ALWYSNRWV
408		CDR-H1 F7O	искусств енная	VYAMN
409		CDR-H2 F7O	искусств енная	RIRSKYNNYATYYADSVK

410		CDR-H3 F70	искусств енная	HGNFNGNSYISWWAY
411		VH F70	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN VYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKRRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFNGNSYISWWAYWGQGT LVVSS
412		VL F70	искусств енная	QTVVTVQEPSTLVSPGGTIVTLTCGSSSTGAVT SGYYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGT PARFSGSLGGKAAALTLSCVQPEDEAEYYC ALWYSNRWVFGGGTKLTVL
413		VH-VL F70	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN VYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKRRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFNGNSYISWWAYWGQGT LVVSSGGGGSGGGSGGGSSQTVVTVQEPST LVSPGGTIVTLTCGSSSTGAVTSGYYPNWVQ KPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLG GKAAALTLSCVQPEDEAEYYCALWYSNRWV FGGGTKLTVL
414		CDR-L1 F12Q	искусств енная	GSSTGAVTSGNYFN
415		CDR-L2 F12Q	искусств енная	GTKFLAP
416		CDR-L3 F12Q	искусств енная	VLWYSNRWV
417		CDR-H1 F12Q	искусств енная	SYAMN
418		CDR-H2 F12Q	искусств енная	RIRSKYNNYATYYADSVKQ
419		CDR-H3 F12Q	искусств енная	HGNFNGNSYVSWWAY
420		VH F12Q	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN SYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWWAYWGQGT LVVSS
421		VL F12Q	искусств енная	QTVVTVQEPSTLVSPGGTIVTLTCGSSSTGAVT SGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGT PARFSGSLGGKAAALTLSCVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVL
422		VH-VL F12Q	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN SYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWWAYWGQGT LVVSSGGGGSGGGSGGGSSQTVVTVQEPST LVSPGGTIVTLTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQ KPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLG GKAAALTLSCVQPEDEAEYYCALWYSNRWV FGGGTKLTVL
423		CDR-L1 F2C	искусств енная	GSSTGAVTSGNYFN

424		CDR-L2 I2C	искусств енная	GTKFLAP
425		CDR-L3 I2C	искусств енная	VLWYSNRWV
426		CDR-H1 I2C	искусств енная	KYAMN
427		CDR-H2 I2C	искусств енная	RIRSKYNNYATYYADSVKD
428		CDR-H3 I2C	искусств енная	HCNFGNSYISYWAY
429		VH I2C	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTLSRDDSKNITAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYLSYWAYWGQGT LVTVSS
430		VL I2C	искусств енная	QIVVTQEPSTLVSPGGTVCITCGSSTGAVT SGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGKLTIVL
431		VH-VI, I2C	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTLSRDDSKNITAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYLSYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGQIVVTQEPSTL TVSPGGTVCITCGSSTGAVTSGNYPNWVQK KPGQAPRGLIGGTFKFLAPGIPARFSGSLLG GKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGKLTIVL
432		VH F12q	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFN SYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKGRFTLSRDDSKNITAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGT LVTVSS
433		VL F12q	искусств енная	QIVVTQEPSTLVSPGGTVCITCGSSTGAVT SGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGKLTIVL
434		VH-VL F12q	искусств енная	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFN SYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKGRFTLSRDDSKNITAYLQMNLLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGQIVVTQEPSTL TVSPGGTVCITCGSSTGAVTSGNYPNWVQK KPGQAPRGLIGGTFKFLAPGIPARFSGSLLG GKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGKLTIVL
435		DLL3-4- 001 (G44C)	VH	QVQLQESGPPGLVQPKSETLSLTCTVSGGSI SYYSWIRQPPGKCLEWIGYVYYSGTTNYN PSLKSRTVLSVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCASIAVIGFYFDYWGQGTIVTVSS

436		DLL3-4-001 (G234C)	VL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERVTLSCRASQRVNNYLAWYQQRPGQAPRLLYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYDRSPITFGCGTKLEIK
437		DLL3-4-001 (G44C-G243C)	scFv	QVQLQESGGPGLVKPSETLSLTCTVSSGGSSISYYWSWIRQPPGKCLEWIGYVYYSGTTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASIAVIGFYFDYWGGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGERVTLSCRASQRVNNYLAWYQQRPGQAPRLLYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYDRSPITFGCGTKLEIK
438		DLL3-4-001 (CC) x 12C	биспецифическая молекула	QVQLQESGGPGLVKPSETLSLTCTVSSGGSSISYYWSWIRQPPGKCLEWIGYVYYSGTTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASIAVIGFYFDYWGGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGERVTLSCRASQRVNNYLAWYQQRPGQAPRLLYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYDRSPITFGCGTKLEIKXSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFNGSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGQTVLQEPFLTVSPGGTVFLTCGSSVTAVTSGLYPNHWQQRKPGQAPRGLIGGTFELAPGTPARFSGSLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFCGCTKLTVL
439		DLL3-14-D55E	VH-CDR2	IINPSEGSTSYAQKFQG
440		DLL3-14-G56A	VH-CDR2	IINPSDASTSYAQKFQG
441		DLL3-14-D171E	VL-CDR1	RSSQSLVYREGNTYLS
442		DLL3-14-G172A	VL-CDR1	RSSQSLVYRDANTYLS
443		DLL3-14-N173Q	VL-CDR1	RSSQSLVYRDGQTYLS
444		DLL3-14-T174A	VL-CDR1	RSSQSLVYRDGNAYLS
445		DLL3-14-L43Q	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGQGLEWMGIIINPSDGSTSYAQKFQGRVTMIRDTSINTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGCNSAFYSYYDMDVWGQGTITVTVSS
446		DLL3-14-D55E	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMHWVRQAPGLGLEWMGIIINPSEGSTSY

				AQKFQGRVTMTRDTSINIVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTTVT VSS
447		DLL3-14- G56A	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSCASTSY AQKFQGRVTMTRDTSINIVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTTVT VSS
448		DLL3-14- L43Q- D55E	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSEGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSINIVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTTVT VSS
449		DLL3-14- L43Q- G56A	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSCASTSY AQKFQGRVTMTRDTSINIVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTTVT VSS
450		DLL3-14- G44C	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSCGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSINIVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTTVT VSS
451		DLL3-14- L43Q- G44C	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGQCLFWMGIINPSCGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSINIVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTTVT VSS
452		DLL3-14- G44C- D55E	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLCLEWMGIINPSEGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSINIVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTTVT VSS
453		DLL3-14- G44C- G56A	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLCLFWMGIINPSCASTSY AQKFQGRVTMTRDTSINIVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTTVT VSS
454		DLL3-14- L43Q- G44C- D55E	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGQCLEWMGIINPSEGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSINIVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTTVT VSS
455		DLL3-14- L43Q- G44C- G56A	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGQCLEWMGIINPSCASTSY AQKFQGRVTMTRDTSINIVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTTVT VSS
456		DLL3-14- D171E	VL	DVVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLV YREGNTYLSWFQQRPQSPRRLIYKVSNWQ SGVDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV

				YYCMQETHWPPTFGQGTKVEIK
457		DLL3-14-G172A	VL	DVVMTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLV YRDANTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQ SGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQETHWPPTFGQGTKVEIK
458		DLL3-14-N173Q	VL	DVVMTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLV YRDGQTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQ SGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQETHWPPTFGQGTKVEIK
459		DLL3-14-T174A	VL	DVVMTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLV YRDGNAYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQ SGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQETHWPPTFGQGTKVEIK
460		DLL3-14-G208S	VL	DVVMTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLV YRDGNTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQ SGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQETHWPPTFGQGTKVEIK
461		DLL3-14-D171E-G208S	VL	DVVMTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLV YREGNTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQ SGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQETHWPPTFGQGTKVEIK
462		DLL3-14-G172A-G208S	VL	DVVMTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLV YRDANTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQ SGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQETHWPPTFGQGTKVEIK
463		DLL3 14 Q243C	VL	DVVMTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLV YRDGNTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQ SGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQETHWPPTFGCGTKVEIK
464		DLL3-14-D171E-Q243C	VL	DVVMTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLV YREGNTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQ SGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQETHWPPTFGCGTKVEIK
465		DLL3-14-G172A-Q243C	VL	DVVMTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLV YRDANTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQ SGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQETHWPPTFGCGTKVEIK
466		DLL3-14-N173Q Q243C	VL	DVVMTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLV YRDGQTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQ SGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQETHWPPTFGCGTKVEIK
467		DLL3-14-T174A-Q243C	VL	DVVMTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLV YRDGNAYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQ SGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQETHWPPTFGCGTKVEIK
468		DLL3-14-G208S-Q243C	VL	DVVMTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLV YRDGNTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQ SGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQETHWPPTFGCGTKVEIK
469		DLL3-14-D171E-G208S-Q243C	VL	DVVMTQTPLSLPVTILGQPASISCRSSQSLV YREGNTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSNNWQ SGVPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQETHWPPTFGCGTKVEIK

470		DLL3-14-G172A-G208S-Q243C	VL	DVVMTQTPI.SI.PVTI.GQPASTSCRSSQSI.VYRDANTYLSWFQQR.PGQSPRRLIYKVSNWQSGVPDR.FSGSGGT.DFTI.KI.SRVFA.F.DVGVYYCMQGT.HWPP.TFGCGTKVEIK
471		DLL3-14-001	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVTVSSGGGGSGGGSGGGSDVVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSXWQSGVPPDRFSGGSGSDTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT.HWPP.TFGQGT.KVEIK
472		DLL3-14-002	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVTVSSCGCGSGCGSGCGSDVVMTQTPLSLPVTI.GQPASTSCRSSQSI.VYRDANTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSXWQSGVPPDRFSGGSGSDTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT.HWPP.TFGQGT.KVEIK
473		DLL3-14-003	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVTVSSGGGGSGGGSGGGSDVVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGQTYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSXWQSGVPPDRFSGGSGSDTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT.HWPP.TFGQGT.KVEIK
474		DLL3-14-004	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVTVSSGGGGSGGGSGGGSDVVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNAYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSXWQSGVPPDRFSGGSGSDTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT.HWPP.TFGQGT.KVEIK
475		DLL3-14-005	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVTVSSGGGGSGGGSGGGSDVVMTQTPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNAYLSWFQQRPGQSPRRLIYKVSXWQSGVPPDRFSGGSGSDTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT.HWPP.TFGQGT.KVEIK
476		DLL3-14-006	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSTSY

				AQKFQGRVTMIRDTSNTVYDLSLRSED TAVYVCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGT ^T VT VSSGGGGSGGGSGGGSDVVM ^T QTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGGGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT ^H WPPT EQGQTKVEIK
477		DLL3-14-007	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGY ^T FT NYYMHWRQAPGLG ^T .FWMGTINPSEGS ^T SY AQKFQGRVTMIRDTSNTVYDLSLRSED TAVYVCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGT ^T VT VSSGGGGSGGGSGGGSDVVM ^T QTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGGGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT ^H WPPT EQGQTKVEIK
478		DLL3-14-008	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGY ^T FT NYYMHWRQAPGLGLEW ^M GIINPSDAS ^T SY AQKFQGRVTMIRDTSNTVYDLSLRSED TAVYVCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGT ^T VT VSSGGGGSGGGSGGGSDVVM ^T QTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGGGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT ^H WPPT EQGQTKVEIK
479		DLL3-14-009	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGY ^T FT NYYMHWRQAPGQGLEW ^M GIINPSDG ^S TSY AQKFQGRVTMIRDTSNTVYDLSLRSED TAVYVCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGT ^T VT VSSGGGGSGGGSGGGSDVVM ^T QTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT ^H WPPT EQGQTKVEIK
480		DLL3-14-010	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGY ^T FT NYYMHWRQAPGQGLEW ^M GIINPSEG ^S TSY AQKFQGRVTMIRDTSNTVYDLSLRSED TAVYVCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGT ^T VT VSSGGGGSGGGSGGGSDVVM ^T QTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT ^H WPPT EQGQTKVEIK
481		DLL3-14-011	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGY ^T FT NYYMHWRQAPGQGT.FWMGTINPSDAS ^T SY AQKFQGRVTMIRDTSNTVYDLSLRSED TAVYVCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGT ^T VT VSSGGGGSGGGSGGGSDVVM ^T QTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT ^H WPPT EQGQTKVEIK

482		DLL3-14-012 (CC)	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGICLFLMMGITINPSDGS TAVYFCARGGNSAFYSYDMDVWGQGT VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSW QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVDRFSGGG GTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQGTHWPPT FGCGTKVEIK
483		DLL3-14-013	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLCLEWMMGITINPSDGS TAVYFCARGGNSAFYSYDMDVWGQGT VTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSW QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVDRFSGGG GTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQGTHWPPT FGCGTKVEIK
484		DLL3-14-014	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLCLEWMMGITINPSDGS TAVYFCARGGNSAFYSYDMDVWGQGT VTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSW QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVDRFSGGG GTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQGTHWPPT FGCGTKVEIK
485		DLL3-14-015	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLCLEWMMGITINPSDGS TAVYFCARGGNSAFYSYDMDVWGQGT VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGQTYLSW QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVDRFSGGG GTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQGTHWPPT FGCGTKVEIK
486		DLL3-14-016	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLCLEWMMGITINPSDGS TAVYFCARGGNSAFYSYDMDVWGQGT VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNAYLSW QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVDRFSGGG GTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQGTHWPPT FGCGTKVEIK
487		DLL3-14-017	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLCLEWMMGITINPSDGS TAVYFCARGGNSAFYSYDMDVWGQGT VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSW QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVDRFSGGG GTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQGTHWPPT

				EGCGTKVEIK
488		DLL3-14-018	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT NYVMHWVRQAPGQCLEWMGIINPSDGS ^T SY AQKFQGRVTMIRD ^T STNTVY ^X DLSSLRSED TAVY ^C CARGGNSAFY ^S SYDDMDVWGQGT ^T V ^T VSSGGGGSGGGSGGGGSDVVM ^T QTPLSLP VT ^L LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY ^L SWFQ QRP ^G QSPRR ^L IYK ^V SNWQSGV ^P DRFSGGGS GTDF ^T LKISRVEAEDVGV ^Y YCMQ ^G THWPPT EGCGTKVEIK
489		DLL3-14-019	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT NYVMHWVRQAPG ^L CLFWMGIINPS ^E GS ^T SY AQKFQGRVTMIRD ^T STNTVY ^X DLSSLRSED TAVY ^C CARGGNSAFY ^S SYDDMDVWGQGT ^T V ^T VSSGGGGSGGGSGGGGSDVVM ^T QTPLSLP VT ^L LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY ^L SWFQ QRP ^G QSPRR ^L IYK ^V SNWQSGV ^P DRFSGGGS GTDF ^T LKISRVEAEDVGV ^Y YCMQ ^G THWPPT EGCGTKVEIK
490		DLL3-14-020	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT NYVMHWVRQAPG ^L CLEWMGIINPS ^D AS ^T SY AQKFQGRVTMIRD ^T STNTVY ^X DLSSLRSED TAVY ^C CARGGNSAFY ^S SYDDMDVWGQGT ^T V ^T VSSGGGGSGGGSGGGGSDVVM ^T QTPLSLP VT ^L LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY ^L SWFQ QRP ^G QSPRR ^L IYK ^V SNWQSGV ^P DRFSGGGS GTDF ^T LKISRVEAEDVGV ^Y YCMQ ^G THWPPT EGCGTKVEIK
491		DLL3-14-021	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT NYVMHWVRQAPGQCLEWMGIINPSDGS ^T SY AQKFQGRVTMIRD ^T STNTVY ^X DLSSLRSED TAVY ^C CARGGNSAFY ^S SYDDMDVWGQGT ^T V ^T VSSGGGGSGGGSGGGGSDVVM ^T QTPLSLP VT ^L LGQPASISCRSSQSLVYRDGNTY ^L SWFQ QRP ^G QSPRR ^L IYK ^V SNWQSGV ^P DRFSGSGS GTDF ^T LKISRVEAEDVGV ^Y YCMQ ^G THWPPT EGCGTKVEIK
492		DLL3-14-022	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT NYVMHWVRQAPGQCLEWMGIINPS ^E GS ^T SY AQKFQGRVTMIRD ^T STNTVY ^X DLSSLRSED TAVY ^C CARGGNSAFY ^S SYDDMDVWGQGT ^T V ^T VSSGGGGSGGGSGGGGSDVVM ^T QTPLSLP VT ^L LGQPASISCRSSQSLVYREGNTY ^L SWFQ QRP ^G QSPRR ^L IYK ^V SNWQSGV ^P DRFSGSGS GTDF ^T LKISRVEAEDVGV ^Y YCMQ ^G THWPPT EGCGTKVEIK
493		DLL3-14-023	scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT NYVMHWVRQAPGQCLFWMGIINPS ^D AS ^T SY AQKFQGRVTMIRD ^T STNTVY ^X DLSSLRSED TAVY ^C CARGGNSAFY ^S SYDDMDVWGQGT ^T V ^T VSSGGGGSGGGSGGGGSDVVM ^T QTPLSLP VT ^L LGQPASISCRSSQSLVYRDANTY ^L SWFQ QRP ^G QSPRR ^L IYK ^V SNWQSGV ^P DRFSGSGS

				GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPPT FGCGTKVEIK
494		DLL3-14-001 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSCAEVKKPGASVKVSKKASGYTFT NYVMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSISY AOKFQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARSGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQ QRPQQSPRRLIYKVSXWQSGVPPDRFSGGGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPPT FGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNE GNSYISYWAYWQGTIVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVTQEPSTLTVSFGGTVTLTCCS STGAVTSGNYPNWVQKPKQAPRGLGGTK FLAPGTPARFSGSLLCGKAALTLGVPQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
495		DLL3-14-002 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSCAEVKKPGASVKVSKKASGYTFT NYVMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSISY AOKFQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARSGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFQ QRPQQSPRRLIYKVSXWQSGVPPDRFSGGGS GTDFTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNE GNSYISYWAYWQGTIVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVTQEPSTLTVSFGGTVTLTCCS STGAVTSGNYPNWVQKPKQAPRGLGGTK FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGVPQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
496		DLL3-14-003 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSCAEVKKPGASVKVSKKASGYTFT NYVMHWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSISY AOKFQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARSGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGQTYLSWFQ QRPQQSPRRLIYKVSXWQSGVPPDRFSGGGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPPT FGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNE GNSYISYWAYWQGTIVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVTQEPSTLTVSFGGTVTLTCCS STGAVTSGNYPNWVQKPKQAPRGLGGTK

				FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
497		DLL3-14-004 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMIWVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGSGGGSGGGSDVVYQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNAYLSWFQ QRPQSPRRLIYKVSNWQSGVPRDFSGGGS GTDFTLKLIRVEAEDVGVYYCYQGTHTWPP FGQGTKEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
498		DLL3-14-005 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHVVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGSGGGSGGGSDVVYQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNAYLSWFQ QRPQSPRRLIYKVSNWQSGVPRDFSGGGS GTDFTLKLIRVEAEDVGVYYCYQGTHTWPP FGQGTKEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPCTPARFSGSLGGKAALTLSCVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
499		DLL3-14-006 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHVVRQAPGLGLEWMGIINPSDGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGSGGGSGGGSDVVYQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNAYLSWFQ QRPQSPRRLIYKVSNWQSGVPRDFSGGGS GTDFTLKLIRVEAEDVGVYYCYQGTHTWPP FGQGTKEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL

500		DLL3-14-007 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLGLEWMGI INPSEGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSINTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWGQGTIVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVYQTPLSLP VTLGQPAISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSINWQSGVPRDFSGGGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGTHTWPPT FGQGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGTIVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVVTQEPSTLTVSPGGTIVLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLIVL
501		DLL3-14-008 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLGIFWMTINPSDASTSY AQKFQGRVTMTRDTSINTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWGQGTIVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVYQTPLSLP VTLGQPAISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSINWQSGVPRDFSGGGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGTHTWPPT FGQGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGTIVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVVTQEPSTLTVSPGGTIVLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLIVL
502		DLL3-14-009 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGQGLEWMGI INPSDGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSINTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWGQGTIVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVYQTPLSLP VTLGQPAISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSINWQSGVPRDFSGGGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGTHTWPPT FGQGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGTIVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVVTQEPSTLTVSPGGTIVLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGCTKLIVL
503		DLL3-14-010 x	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGQGLEWMGI INPSEGSTSY

		I2C	молекула	AQKFQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWGQGTTVT VSSGGGSGGGGSGGGSDVVYQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQ QRPQSPRRLIYKVSNWQSGVDRFSGSGS GTDFTLKLRSRVEAEDVGVYCYQGTHWPPT FGQGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GSSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNMLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVVTQEPSTVSPGGTIVLTCGS STCAVTSNGYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGQVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
504		DLL3-14-011 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHVVRQAPGGLEWMGIINPSDASTSY AQKFQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWGQGTTVT VSSGGGSGGGGSGGGSDVVYQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFQ QRPQSPRRLIYKVSNWQSGVDRFSGSGS GTDFTLKLRSRVEAEDVGVYCYQGTHWPPT FGQGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GSSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNMLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVVTQEPSTVSPGGTIVLTCGS STCAVTSNGYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGQVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
505		DLL3-14-012 (CC) x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHVVRQAPGLCLEWMGIINPSDGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWGQGTTVT VSSGGGSGGGGSGGGSDVVYQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFQ QRPQSPRRLIYKVSNWQSGVDRFSGSGS GTDFTLKLRSRVEAEDVGVYCYQGTHWPPT FGQGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GSSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNMLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGG SGGGGQTVVVTQEPSTVSPGGTIVLTCGS STCAVTSNGYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLGQVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
506		DLL3-14-013 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHVVRQAPGLCLEWMGIINPSDGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWGQGTTVT

				VSSGGGGSGGGSGGGSDVVYQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGGGS GTDFTLKLISRVEAEDVGYYCYQGTHWPPT FGCGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNMLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGG SGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGGTVLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
507		DLL3-14-014 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLCLEWMMGIINPSDGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSINTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGGSGGGSGGGSDVVYQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDANTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGGGS GTDFTLKLISRVEAEDVGYYCYQGTHWPPT FGCGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNMLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGG SGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGGTVLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGCTKLTVI
508		DLL3-14-015 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLCLEWMMGIINPSDGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSINTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGGSGGGSGGGSDVVYQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGQTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGGGS GTDFTLKLISRVEAEDVGYYCYQGTHWPPT FGCGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNMLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGG SGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGGTVLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
509		DLL3-14-016 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLCLEWMMGIINPSDGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSINTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGGSGGGSGGGSDVVYQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNAYLSWFQ

				<p>QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPPDRFSGGGG GTDFTLKI SRVEAEDVGVVYCMQGTWPPPT FGCGTKVEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGSGGGG SGGGGQT VVIQE PSLTVSPGGTVTLTCS S TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL</p>
510		DLL3-14-017 x I2C	биспецифическая молекула	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT NYYMHVWRQAPGLCLEWMGIINPSDGSSTSY AQKFCQGRVTMIRDTSINTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWVGQGTIVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPPDRFSGGGS GTDFTLKI SRVEAEDVGVVYCMQGTWPPPT FGCGTKVEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGSGGGG SGGGGQT VVIQE PSLTVSPGGTVTLTCS S TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL</p>
511		DLL3-14-018 x I2C	биспецифическая молекула	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT NYYMHVWRQAPGLCLEWMGIINPSDGSSTSY AQKFCQGRVTMIRDTSINTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWVGQGTIVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPPDRFSGGGS GTDFTLKI SRVEAEDVGVVYCMQGTWPPPT FGCGTKVEIKS GGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGSGGGG SGGGGQT VVIQE PSLTVSPGGTVTLTCS S TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL</p>
512		DLL3-14-019 x I2C	биспецифическая молекула	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT NYYMHVWRQAPGLCLEWMGIINPSEGSTSY AQKFCQGRVTMIRDTSINTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMVWVGQGTIVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDVVMQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNWQSGVPPDRFSGGGS GTDFTLKI SRVEAEDVGVVYCMQGTWPPPT</p>

				FGCGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGGTVLTCGS STGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLIVL
513		DLL3-14-020 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGLCLFWMGTINPSDASTSY AQKFQGRVTMTRDTSINTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGGSGGGSGGGGSQVYVYQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGTHTWPP FGCGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSTKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLVTVSSCGGGSGGGG SGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGGTVLTCGS STGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLIVL
514		DLL3-14-021 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGQCLEWMMGIINPSDGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSINTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGGSGGGSGGGGSQVYVYQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRPQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGTHTWPP FGCGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGGTVLTCGS STGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLIVL
515		DLL3-14-022 x I2C	биспецифическая молекула	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWVRQAPGQCLEWMMGIINPSEGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSINTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSCGGSGCGGSGGGGSQVYVYQTPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYREGNTYLSWFQ QRPQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCYQGTHTWPP FGCGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG

				KFNWYVDGVEVHNAKTKPCBEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS SCSMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK
518		DLL3-4 x I2C - scFc_del GK	биспещиф ическая молекула HLE	QVQLQESGPGFLVKPSETLSLTCTVSGGSIS SYYWSWIRQPPGKCLEWIGYVYYSGTTNYN PSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSTAAADT AVYYCASAVTGFYFDYWGQGTLVTVSSGG GSSGGGSGGGSEIVLTQSPGTLSTSPGE RVTLSCRASQRVNANNYLAWYQQRPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFCGCTKLEI KSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDIAVYVCVREGNFGNSYISYWA YWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTV VTQEPSTLVSPGGTVCITCGSSITGAVTSGN YPNWVQQRPGQAPRGLIGGTFIAPGTPAR FSGSLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYCVLW YSNRWVFGGKTLTVLGGGDKTHTCPPECP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKEFNWYVDGVEVHNAKTK PCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSGSEFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNNHYTQKSL I.SLSPGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSDKTHTCPPCPAPELIGGSPVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKE FNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS SMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK
519		DLL3-4- 001 (CC) x I2C - scFc	биспещиф ическая молекула HLE	QVQLQESGPGFLVKPSETLSLTCTVSGGSIS SYYWSWIRQPPGKCLEWIGYVYYSGTTNYN PSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSTAAADT AVYYCASAVTGFYFDYWGQGTLVTVSSGG GSSGGGSGGGSEIVLTQSPGTLSTSPGE RVTLSCRASQRVNANNYLAWYQQRPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFCGCTKLEI KSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRS KYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDIAVYVCVREGNFGNSYISYWA YWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTV VTQEPSTLVSPGGTVCITCGSSITGAVTSGN

				<p>YPNWWQQKPGQAPRGI IGGTKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGKTLTVLGGGGDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDNLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGGSDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCFEQYGSTYRCV SVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
520		DLL3-4-001 (CC) x I2C - scFc _delGK	биспецифическая молекула ИТФ	<p>QVQLQESGGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIS SYYWSWIRQPPGKCLEWIGYVYYSGTNNYN PSLKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCASIAVTGFYFDYWGQGLVTVSSGG GGGGGGGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGE RVTLSCRASQRVNNNYLAWYQORPCQAPRL LIYGASSRATGIPERFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQYDRSPLTFGGCKLEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRS KYNNYATYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA YWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGQTV VTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGN YPNWWQQKPGQAPRGI IGGTKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLSCVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGKTLTVLGGGGDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDNLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGSDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NRYVDGVEVHNAKTKPCFEQYGSTYRCVSV LTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTF FVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>

521		DLL3-6 x I2C - scFc	биспецифическая молекула HLE	<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGTINYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GGSGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLTSLSPGE RATISCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRI LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLETFGGGTKVEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRS KYNNYATYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA YWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTV VTQEPSTLVSPGGTVTLTCCSSTGAVTSGN YPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPAR FSGSLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYCVLW YSNRWVFGGKTLTVLGGGDKHTHTCPPCP APELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKIK PCEEQYGSYRCVSVLTVLHQDWLNCKEYK CKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVY LPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGDKHTHTCPPCPAPELGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKIKPCEEQYGSYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
522		DLL3-6 x I2C - scFc_del CK	биспецифическая молекула HLE	<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGTINYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGLVTVSSGG GGSGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLTSLSPGE RATISCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRI LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYDRSPLETFGGGTKVEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRS KYNNYATYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA YWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTV VTQEPSTLVSPGGTVTLTCCSSTGAVTSGN YPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPAR FSGSLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYCVLW YSNRWVFGGKTLTVLGGGDKHTHTCPPCP APELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKIK PCEEQYGSYRCVSVLTVLHQDWLNCKEYK</p>

			<p>RLEPRDFAVYYCQQYDRSPICTFGCGTKVFT KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLFWVARTRS KYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA YWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGT VTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSGTGAVTSGN YFNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPAR FSGSLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGKTLTVLGGGGDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PCPEYQGSTYRCVSVLTIVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVY TLPSSREFMTKNQVSLTCLVKG:FYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSQSVMHFALEHNYTQKS LSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGSDKTHCTCPPAPELGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NRYVDGVEVHNAKTKPCPEYQGSTYRCVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI ISKAKGQPREPQVYTLPPSREFMTKNQVSL TCLVKG:FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLESDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQ SVMHFALEHNYTQKSLSLSPGK</p>
525	DLL3-14 x I2C - scFc	биспециф ическая молекула HLE	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMHWRQAPGLGLEWMGILINPSDGSTSY AQKFGQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTVT VSSCGCGSGCGGSGCGGSDVVMQTQPLSLP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFO QRPGQSPRLIYKVSNWQSGVDRFSGGGG GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPP FGQGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGK LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGGGGGGG SGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCG STGAVTSGNYFNWVQQKPGQAPRGLIGGTF FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLVSGVQPEDE EAEYYCVLWYSNRWVFGGKTLTVLGGGGD KHTCPPCPAPKTLGGPSVFLFPPKPKDTLM MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCPEYQGSTYRCVSVLTIVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKG QPREPQVYTLPPSREFMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHFA LEHNYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGG SGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV</p>

				DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
526		DLL3-14 x I2C - scFc_del GK	биспециф ическая молекула HLE	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMIWVRQAPGLGLEWMGIINPDSGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGSGGGGSGCGSDVVMVTQTPISTP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRFGQSPRRLIYKVSNWQSGVPRFSGGGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTWHPPT FGCGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DLSKNTAYLQMNLIKTFDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGSGGGG SGGGGSGTAVVYQEPSTVSPGGTIVLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPKQAAPRGLIGTK FLAPGTPARFSGSLLGKAAALTLVSGVQPED EAEYVCVLYSNRWVFGGKTKLTVLGGGD KTHTCPCFPAPELLGSPVFLFPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGGGSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSDKIHTCPCPAPELLG GPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQY GSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K
527		DLL3-14- 012 (CC) x I2C - scFc	биспециф ическая молекула HLE	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYYMIWVRQAPGLGLEWMGIINPDSGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSNTVYMDLSSLRSED TAVYYCARGGNSAFYSYYDMDVWGQGTIVT VSSGGGSGGGGSGCGSDVVMVTQTPISTP VTLGQPASISCRSSQSLVYRDGNTYLSWFQ QRFGQSPRRLIYKVSNWQSGVPRFSGGGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTWHPPT FGCGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DLSKNTAYLQMNLIKTFDTAVYYCVRHGNF

			<p>GNSYISYWAYWQGT LVTVSSGGGSGGGG SGGGGSQT VVTQEPS LTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGD KTHCCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRIPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKC FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVSMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGG SGGGSGGGGGGGGGGSDKTHCCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEE QYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN CQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKITVDK SRWQQGNVFCVSMHEALHNHYTQKSLSL PGK</p>
<p>528</p>	<p>DLL3-14-012 (CC) x I2C-scFc_del GK</p>	<p>биспецифическая молекула HLE</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFI NYYMHWRQAPGLCLEWMMGLINPSDGSISY AOKFQGRVTMTRDTSTNTVYMDLSLRSED TAVYYCARGGNSAIFYSYDMDVWQGTITVI VSSGGGGGGGGGGGGGGSDVMTQTPLSLP VTIQQPASTSCRSSQSIIVYRDGNTYISWFF QRPQQSPRRLIYKVSNWQSGVPDRFSGGGS CTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTWPPPI FGCITKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG IEFVARTIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNMLKTEDTAVYYCVRHGNF CNSYISYWAYWQGT LVTVSSGGGSGGGG SGGGGSQT VVTQEPS LTVSPGGTVTLTCGS STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPED EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGD KTHCCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRIPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKC FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVSMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGG GGGSGGGGGGGGGGSDKTHCCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQY GSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRF EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ</p>

				PENNYKTTFPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG K
529		DLL3-6-001 (CC)	VE	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKCLEWIGYIYYSGTTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGTLVTVSS
530		DLL3-6-001 (CC)	VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVN KNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QYDRSPLTFGCGTKVEIK
531		DLL3-6-001 (CC)	scFv	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKCLEWIGYIYYSGTTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGTLVTVSSGG GCGGGGGSGCGGSEIVLTQSPGTLSLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQYDRSPLTFGCGTKVEI K
532		DLL3-6-001 (CC) x I2C	биспециф ическая молекула	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGASIS SFYWSWIRQPPGKCLEWIGYIYYSGTTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARIAVAGFFFDYWGQGTLVTVSSGG GGSGGGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGE RATLSCRASQSVNKNYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQYDRSPLTFGCGTKVEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFNKYAMNWRQAPGK3LEWVARLRS KYNXYATYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEETA VYYCVRHGNFGNSYISYWA YWQGTLVTVSSGGGGGGGGGGGGGQTV VTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVISGN YPNWWQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPAR ESGSLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGCTKLTVL
533		Fc мономер- 1 +c/-g		DKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPCEEQYGSYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPFENNYKTTFPVLDS DGSFFLYSKLIVDKSRWQQGNVFCSCVMEE ALHNHYTQKSLSLSPGK
534		Fc мономер- 2 +c/-g/ delGK		DKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPCEEQYGSYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK

				GFYPSDIAVEWESNGQFENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
535		Fc мономер-3 -c/-g		DKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLLVKGFYPSDIAVEWESNGQFENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
536		Fc мономер-4 -c/-g/ delGK		DKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLLVKGFYPSDIAVEWESNGQFENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
537		Fc мономер-5 -c/-g		DKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLLVKGFYPSDIAVEWESNGQFENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
538		Fc мономер-6 -c/-g/ delGK		DKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLLVKGFYPSDIAVEWESNGQFENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
539		Fc мономер-7 +c/-g		DKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLLVKGFYPSDIAVEWESNGQFENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
540		Fc мономер-8 +c/-g/ delGK		DKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLLVKGFYPSDIAVEWESNGQFENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
541		scFc-1		DKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

				GVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHE ALHNHYTQKSLSLSPKGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCE EQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGGFFLYSKLTVL KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
542		scFc-2		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEXTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGGFFLYSKLTVLDS RWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
543		scFc-3		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHE ALHNHYTQKSLSLSPKGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGGFFLYSKLTVL KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
544		scFc-4		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK

				GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
545		scFc-5		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSYRVVSVLTVLEQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSYRVVSVLTVLEQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
546		scFc-6		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSYRVVSVLTVLEQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
547		scFc-7		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSYRCVSVLTVLEQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPE

				LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEFVHNAKTKPCF EQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIISKAKGQPREFPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSQSVMHREALHNHYTQKSLSL SPGK
548		scFc-8		DKTHCCPPCPAPFELI,GGPSVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVINA KTKPCCEEQYNSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAK GQPREFPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHCCPPCPAPFELI GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVINA KTKPCCEEQ YNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTIISKAKGQPREFPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSQSVMHREALHNHYTQKSLSLSP
549		(G ₄ S) ₄ лизи́кер		GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
550		(G ₄ S) ₅ лизи́кер		GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
551		(G ₄ S) ₆ лизи́кер		GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
552		(G ₄ S) ₇ лизи́кер		GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS GGGGGS
553		(G ₄ S) ₈ лизи́кер		GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS GGGGSGGGGS
554		DLL3-22	биспециф ическая молекула	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDSISSYYWTW IRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYPFLKSRVITISVD TSKSQFSLKLSVTAADTAVYYCAIAVIRGFFFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSEIIVTQSPGTL SLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRL LIVGASTRATGIDPRFSGSGSDTFTLTIISRLEPED FAVYYCQQYCTSPITFGGGTKVFTKRSQGGSERVQT VESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQA FGRGLEWVARLRKYNNTATYYADSVKDRFRTISRDD SKNTAYIQMNNLKTPIITAVYYCVRHGNFNSYTSYW AYRQGGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSTVVTQEP SLTVSPGGTVLTCGSETGAVTSGNYPNWRVQQKFGQ APRGLIGGTFKLAFTGTPARFSGSLGGKAAITLSGV QPEDEAEYICLVHYSNRWVFGGGTKLTVLNNHHHH

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Конструкция биспецифического антитела, содержащая первый связывающий домен, который связывается с ДПБЗ (DLL3) человека на поверхности клетки-мишени, и второй связывающий домен, который связывается с СДЗ (CD3) человека на поверхности Т-клетки и по меньшей мере с СДЗ (CD3) макака, причем первый связывающий домен связывается с эпитопом ДПБЗ (DLL3), который находится в пределах участка, представленного в SEQ ID NO: 260, где первый связывающий домен содержит участок VH, который содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, и участок VL, который содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из группы, состоящей из:

а) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 31, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 32, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 33, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 34, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 35, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 36;

б) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 41, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 42, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 43, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 44, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 45, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 46;

в) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 51, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 52, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 53, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 54, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 55, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 56;

г) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 61, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 62, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 63, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 64, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 65, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 66;

д) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 71, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 72, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 73, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 74, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 75, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 76;

е) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 81, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 82, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 83, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 84, CDR-L2, пред-

CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 442, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136;

ж) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 131, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 132, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 443, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136;

к) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 131, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 132, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 444, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136;

л) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 131, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 439, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 441, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136; и

м) CDR-H1, представленного в SEQ ID NO: 131, CDR-H2, представленного в SEQ ID NO: 440, CDR-H3, представленного в SEQ ID NO: 133, CDR-L1, представленного в SEQ ID NO: 442, CDR-L2, представленного в SEQ ID NO: 135, и CDR-L3, представленного в SEQ ID NO: 136.

5. Конструкция антитела по любому из пп.1-4, в которой первый связывающий домен дополнительно связывается с ДПБЗ (DLL3) макака, предпочтительно с ДПБЗ (DLL3) *Macaca fascicularis*.

6. Конструкция антитела по любому из пп.1-5, в которой второй связывающий домен связывается с СДЗ (CD3) ипсилон человека и с СДЗ (CD3) ипсилон *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* или *Saimiri sciureus*.

7. Конструкция антитела по любому из предшествующих пунктов, в которой конструкция антитела находится в формате, выбранном из группы, состоящей из (scFv)₂, scFv-однодоменного mAb, диател и олигомеров вышеуказанных форматов.

8. Конструкция антитела по любому из пп.1-3, в которой первый связывающий домен связывается с эпитопом ДПБЗ (DLL3), находящимся в пределах участка, представленного в SEQ ID NO: 258.

9. Конструкция антитела по п.1 или 8, в которой первый связывающий домен содержит участок VH, выбранный из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 435 и SEQ ID NO: 529.

10. Конструкция антитела по п.2 или 8, в которой первый связывающий домен содержит участок VH, представленный в SEQ ID NO: 107.

11. Конструкция антитела по п.3 или 8, в которой первый связывающий домен содержит участок VH, представленный в SEQ ID NO: 117.

12. Конструкция антитела по пп.1, 8 или 9, в которой первый связывающий домен содержит участок VL, выбранный из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 436 и SEQ ID NO: 530.

13. Конструкция антитела по пп.2, 8 или 10, в которой первый связывающий домен содержит участок VL, представленный в SEQ ID NO: 108.

14. Конструкция антитела по пп.3, 8 или 11, в которой первый связывающий домен содержит участок VL, представленный в SEQ ID NO: 118.

15. Конструкция антитела по любому из пп.1, 8, 9 и 12, в которой первый связывающий домен содержит участок VH и участок VL, выбранные из группы, состоящей из пар участков VH и участков VL, представленных в SEQ ID NO: 37 и 38; SEQ ID NO: 47 и 48; SEQ ID NO: 57 и 58; SEQ ID NO: 67 и 68; SEQ ID NO: 77 и 78; SEQ ID NO: 87 и 88; SEQ ID NO: 97 и 98; SEQ ID NO: 107 и 108; SEQ ID NO: 117 и 118; SEQ ID NO: 435 и 436; и SEQ ID NO: 529 и 530 соответственно.

16. Конструкция антитела по любому из пп.2, 8, 10 и 13, в которой первый связывающий домен содержит участок VH и участок VL, выбранные из группы, состоящей из пар участков VH и участков VL, представленных в SEQ ID NO: 107 и 108 соответственно.

17. Конструкция антитела по любому из пп.3, 8, 11 и 14, в которой первый связывающий домен содержит участок VH и участок VL, выбранные из группы, состоящей из пар участков VH и участков VL, представленных в SEQ ID NO: 117 и 118 соответственно.

18. Конструкция антитела по любому из пп.1, 8, 9, 12 и 15, в которой первый связывающий домен содержит полипептид, выбранный из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 437 и SEQ ID NO: 531.

19. Конструкция антитела по любому из пп.2, 8, 10, 13 и 16, в которой первый связывающий домен содержит полипептид, представленный в SEQ ID NO: 109.

20. Конструкция антитела по любому из пп.3, 8, 11, 14 и 17, в которой первый связывающий домен содержит полипептид, представленный в SEQ ID NO: 119.

21. Конструкция антитела по любому из пп.1, 8, 9, 12, 15 и 18, содержащая аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 213, SEQ ID NO: 214, SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 217,

SEQ ID NO: 438 и SEQ ID NO: 532.

22. Конструкция антитела по любому из пп.2, 8, 10, 13, 16 и 19, содержащая аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 110.

23. Конструкция антитела по любому из пп.3, 8, 11, 14, 17 и 20, содержащая аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 120.

24. Конструкция антитела по любому из пп.1, 8, 9, 12, 15, 18 и 21, содержащая аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 517, SEQ ID NO: 518, SEQ ID NO: 519, SEQ ID NO: 520, SEQ ID NO: 521, SEQ ID NO: 522, SEQ ID NO: 523 и SEQ ID NO: 524.

25. Конструкция антитела по п.4, в которой первый связывающий домен связывается с эпитопом ДПБ3 (DLL3), находящимся в пределах участка, представленного в SEQ ID NO: 259.

26. Конструкция антитела по п.4 или 25, в которой первый связывающий домен содержит участок VH, выбранный из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 445, SEQ ID NO: 446, SEQ ID NO: 447, SEQ ID NO: 448, SEQ ID NO: 449, SEQ ID NO: 450, SEQ ID NO: 451, SEQ ID NO: 452, SEQ ID NO: 453, SEQ ID NO: 454 и SEQ ID NO: 455.

27. Конструкция антитела по любому из пп.4, 25 и 26, в которой первый связывающий домен содержит участок VL, выбранный из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 456, SEQ ID NO: 457, SEQ ID NO: 458, SEQ ID NO: 459, SEQ ID NO: 460, SEQ ID NO: 461, SEQ ID NO: 462, SEQ ID NO: 463, SEQ ID NO: 464, SEQ ID NO: 465, SEQ ID NO: 466, SEQ ID NO: 467, SEQ ID NO: 468, SEQ ID NO: 469 и SEQ ID NO: 470.

28. Конструкция антитела по любому из пп.4 и 25-27, в которой первый связывающий домен содержит участок VH и участок VL, выбранные из группы, состоящей из пар участков VH и участков VL, представленных в SEQ ID NO: 127 и 128; SEQ ID NO: 137 и 138; SEQ ID NO: 147 и 148; SEQ ID NO: 157 и 158; SEQ ID NO: 167 и 168; SEQ ID NO: 137 и 456; SEQ ID NO: 137 и 457; SEQ ID NO: 137 и 458; SEQ ID NO: 137 и 459; SEQ ID NO: 137 и 460; SEQ ID NO: 445 и 138; SEQ ID NO: 446 и 138; SEQ ID NO: 447 и 138; SEQ ID NO: 445 и 460; SEQ ID NO: 448 и 461; SEQ ID NO: 449 и 462; SEQ ID NO: 450 и 463; SEQ ID NO: 450 и 464; SEQ ID NO: 450 и 465; SEQ ID NO: 450 и 466; SEQ ID NO: 450 и 467; SEQ ID NO: 450 и 468; SEQ ID NO: 451 и 463; SEQ ID NO: 452 и 463; SEQ ID NO: 453 и 463; SEQ ID NO: 451 и 468; SEQ ID NO: 454 и 469 и SEQ ID NO 455 и 470.

29. Конструкция антитела по любому из пп.4 и 25-28, в которой первый связывающий домен содержит scFv-фрагмент, выбранный из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 471, SEQ ID NO: 472, SEQ ID NO: 473, SEQ ID NO: 474, SEQ ID NO: 475, SEQ ID NO: 476, SEQ ID NO: 477, SEQ ID NO: 478, SEQ ID NO: 479, SEQ ID NO: 480, SEQ ID NO: 481, SEQ ID NO: 482, SEQ ID NO: 483, SEQ ID NO: 484, SEQ ID NO: 485, SEQ ID NO: 486, SEQ ID NO: 487, SEQ ID NO: 488, SEQ ID NO: 489, SEQ ID NO: 490, SEQ ID NO: 491, SEQ ID NO: 492 и SEQ ID NO: 493.

30. Конструкция антитела по любому из пп.4 и 25-29, содержащая аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из представленных в SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 170; SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 494, SEQ ID NO: 495, SEQ ID NO: 496, SEQ ID NO: 497, SEQ ID NO: 498, SEQ ID NO: 499, SEQ ID NO: 500, SEQ ID NO: 501, SEQ ID NO: 502, SEQ ID NO: 503, SEQ ID NO: 504, SEQ ID NO: 505, SEQ ID NO: 506, SEQ ID NO: 507, SEQ ID NO: 508, SEQ ID NO: 509, SEQ ID NO: 510, SEQ ID NO: 511, SEQ ID NO: 512, SEQ ID NO: 513, SEQ ID NO: 514, SEQ ID NO: 515 и SEQ ID NO: 516.

31. Конструкция антитела по любому из пп.4, 25 и 30, содержащая или состоящая из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 525, SEQ ID NO: 526, SEQ ID NO: 527 и SEQ ID NO: 528.

32. Полинуклеотид, кодирующий конструкцию антитела по любому из предшествующих пунктов.

33. Экспрессионный вектор, содержащий полинуклеотид по п.32.

34. Клетка-хозяин для получения конструкции антитела по любому из пп.1-31, трансформированная или трансфектированная полинуклеотидом по п.32 или вектором по п.33.

35. Способ получения конструкции антитела по любому из пп.1-31, причем указанный способ включает в себя культивирование клетки-хозяина по п.34 в условиях, обеспечивающих экспрессию указанной конструкции антитела и выделение продуцированной конструкции антитела из культуры.

36. Фармацевтическая композиция для профилактики, лечения или облегчения опухоли, выбранной из группы, состоящей из опухоли молочной железы, шейки матки, толстой кишки, колоректального отдела, эндометрия, головы и шеи, печени, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, кожи, желудка, яичка, щитовидной железы, надпочечника, почки, мочевого пузыря, матки, пищевода, уретера и головного мозга, лимфомы, карциномы и саркомы, содержащая конструкцию антитела по любому из пп.1-31 или полученную согласно способу по п.35.

37. Фармацевтическая композиция по п.36, где опухоль представляет собой раковое заболевание,

выбранное из группы, состоящей из ракового заболевания молочной железы, шейки матки, толстой кишки, колоректального отдела, эндометрия, головы и шеи, печени, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, кожи, желудка, яичка, щитовидной железы, надпочечника, почки, мочевого пузыря, матки, пищевода, уретерия и головного мозга и метастатического ракового заболевания, происходящего из любого из вышеперечисленных.

38. Фармацевтическая композиция по п.37, где раковое заболевание представляет собой мелкоклеточный рак легкого (SCLC), немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), глиому, глиобластому, меланому, нейроэндокринный рак предстательной железы, нейроэндокринный рак поджелудочной железы, гепатобластому и гепатоцеллюлярную карциному или метастатическое раковое заболевание, происходящее из любого из вышеперечисленных.

39. Применение конструкции антитела по любому из пп.1-31 или полученной согласно способу по п.35 для профилактики, лечения или облегчения опухоли, выбранной из группы, состоящей из опухоли молочной железы, шейки матки, толстой кишки, колоректального отдела, эндометрия, головы и шеи, печени, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, кожи, желудка, яичка, щитовидной железы, надпочечника, почки, мочевого пузыря, матки, пищевода, уретерия и головного мозга, лимфомы, карциномы и саркомы.

40. Применение по п.39, где опухоль представляет собой раковое заболевание, выбранное из группы, состоящей из ракового заболевания молочной железы, шейки матки, толстой кишки, колоректального отдела, эндометрия, головы и шеи, печени, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, кожи, желудка, яичка, щитовидной железы, надпочечника, почки, мочевого пузыря, матки, пищевода, уретерия и головного мозга и метастатического ракового заболевания, происходящего из любого из вышеперечисленных.

41. Применение по п.40, где раковое заболевание представляет собой мелкоклеточный рак легкого (SCLC), немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), глиому, глиобластому, меланому, нейроэндокринный рак предстательной железы, нейроэндокринный рак поджелудочной железы, гепатобластому и гепатоцеллюлярную карциному или метастатическое раковое заболевание, происходящее из любого из вышеперечисленных.

42. Способ лечения или облегчения опухоли, выбранной из группы, состоящей из опухоли молочной железы, шейки матки, толстой кишки, колоректального отдела, эндометрия, головы и шеи, печени, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, кожи, желудка, яичка, щитовидной железы, надпочечника, почки, мочевого пузыря, матки, пищевода, уретерия и головного мозга, лимфомы, карциномы и саркомы, включающий стадию введения субъекту, нуждающемуся в этом, конструкции антитела по любому из пп.1-31 или полученной согласно способу по п.35.

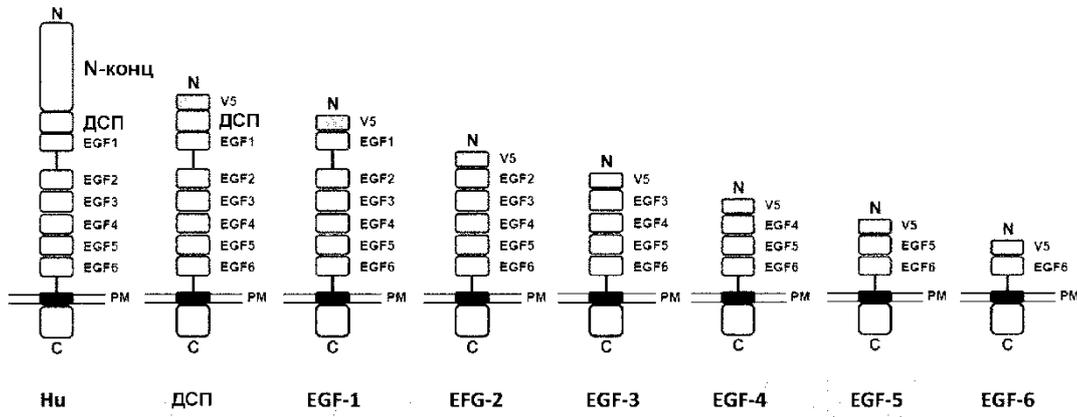
43. Способ по п.42, где опухоль представляет собой раковое заболевание, выбранное из группы, состоящей из ракового заболевания молочной железы, шейки матки, толстой кишки, колоректального отдела, эндометрия, головы и шеи, печени, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, кожи, желудка, яичка, щитовидной железы, надпочечника, почки, мочевого пузыря, матки, пищевода, уретерия и головного мозга и метастатического ракового заболевания, происходящего из любого из вышеперечисленных.

44. Способ по п.43, где раковое заболевание представляет собой мелкоклеточный рак легкого (SCLC), немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), глиому, глиобластому, меланому, нейроэндокринный рак предстательной железы, нейроэндокринный рак поджелудочной железы, гепатобластому и гепатоцеллюлярную карциному или метастатическое раковое заболевание, происходящее из любого из вышеперечисленных.

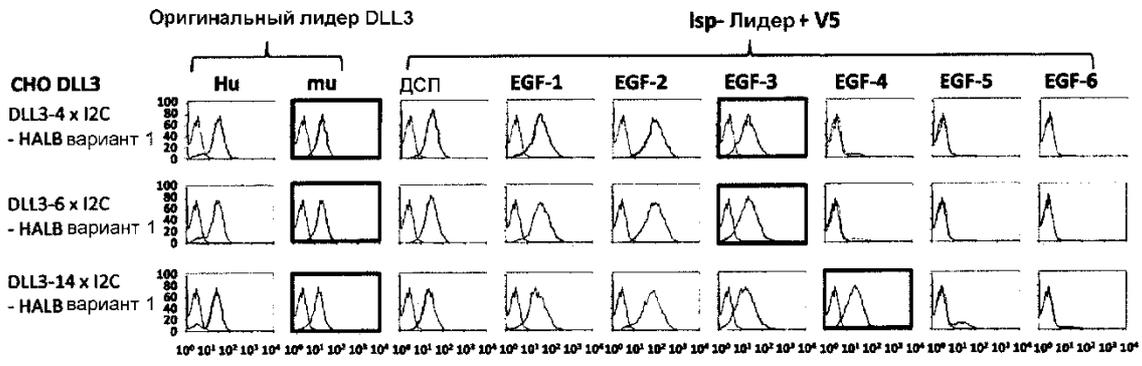
45. Набор для профилактики, лечения или облегчения опухоли, выбранной из группы, состоящей из опухоли молочной железы, шейки матки, толстой кишки, колоректального отдела, эндометрия, головы и шеи, печени, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, кожи, желудка, яичка, щитовидной железы, надпочечника, почки, мочевого пузыря, матки, пищевода, уретерия и головного мозга, лимфомы, карциномы и саркомы, содержащий конструкцию антитела по любому из пп.1-31, конструкцию антитела, полученную согласно способу по п.35, полинуклеотид по п.32, вектор по п.33 и/или клетку-хозяина по п.34 и инструкции по применению.

46. Набор по п.45, где опухоль представляет собой раковое заболевание, выбранное из группы, состоящей из ракового заболевания молочной железы, шейки матки, толстой кишки, колоректального отдела, эндометрия, головы и шеи, печени, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, кожи, желудка, яичка, щитовидной железы, надпочечника, почки, мочевого пузыря, матки, пищевода, уретерия и головного мозга и метастатического ракового заболевания, происходящего из любого из вышеперечисленных.

47. Набор по п.46, где раковое заболевание представляет собой мелкоклеточный рак легкого (SCLC), немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), глиому, глиобластому, меланому, нейроэндокринный рак предстательной железы, нейроэндокринный рак поджелудочной железы, гепатобластому и гепатоцеллюлярную карциному или метастатическое раковое заболевание, происходящее из любого из вышеперечисленных.

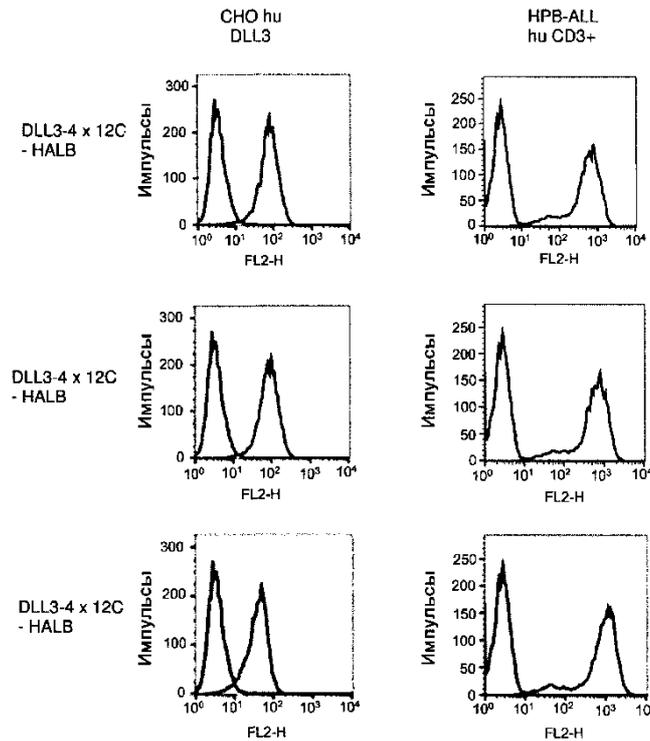


Фиг. 1

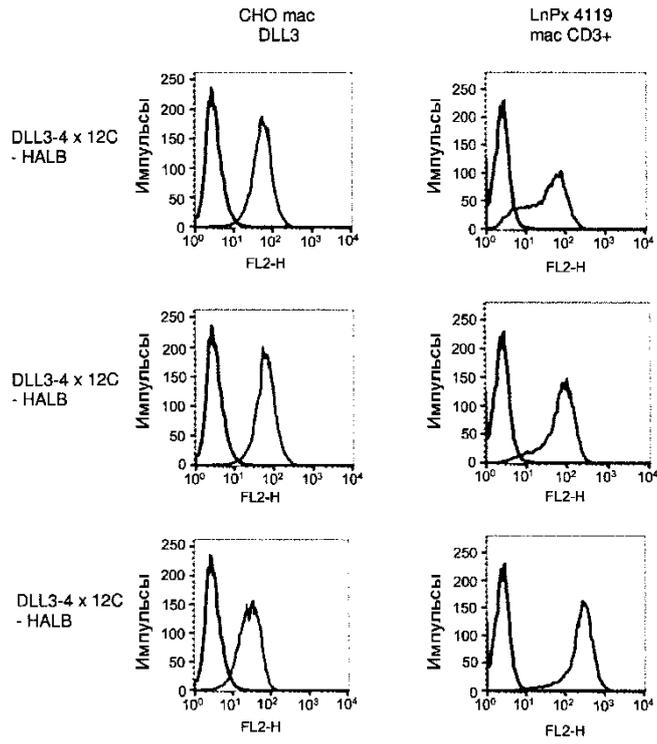


ось x - ФЭ-А
ось y - нормализована к режиму

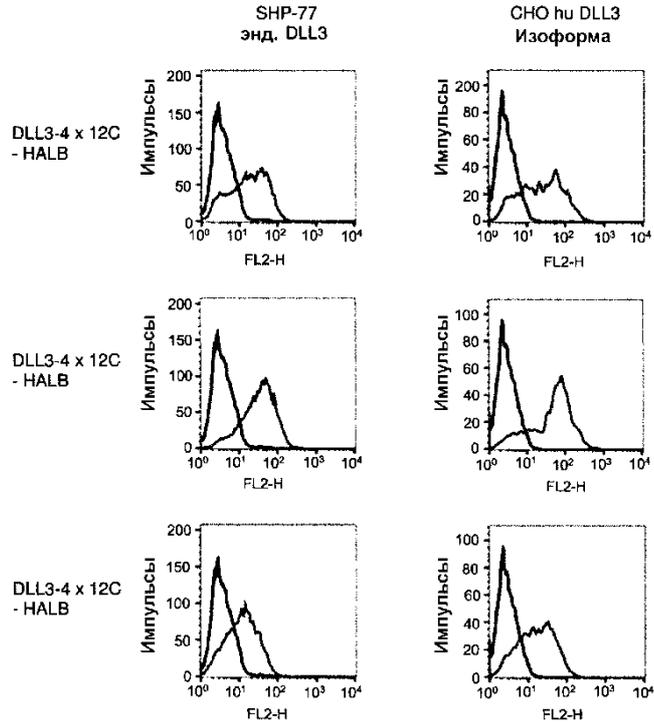
Фиг. 2



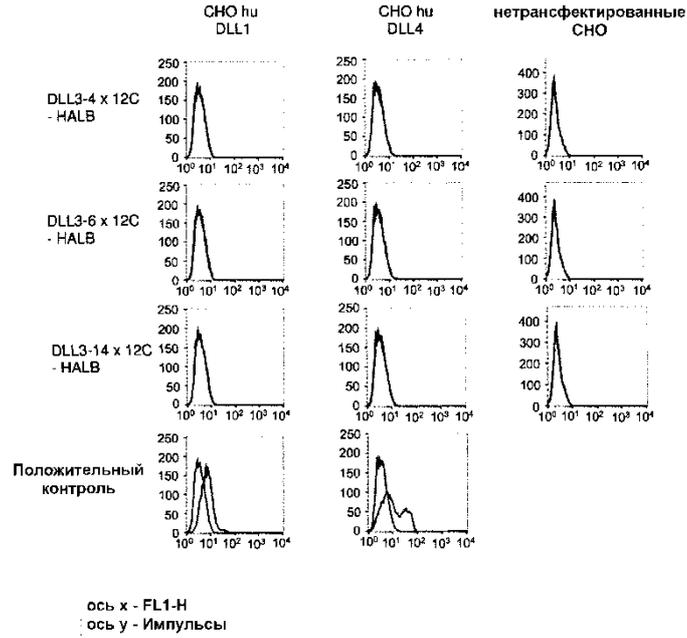
Фиг. 3А



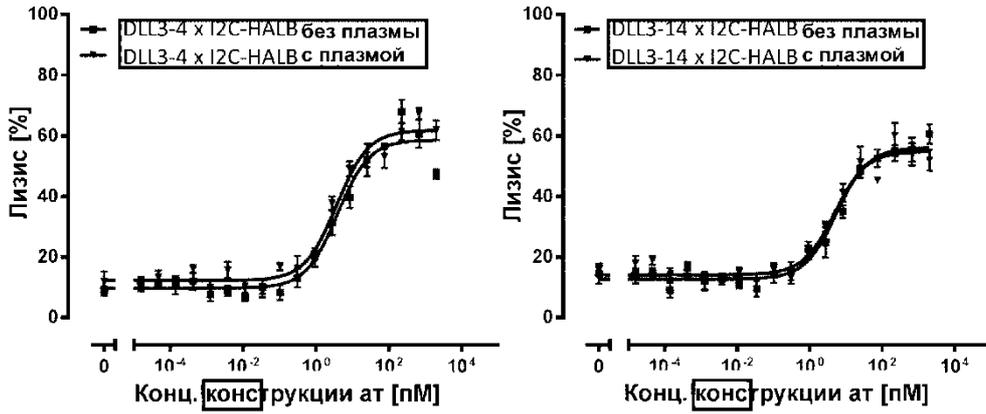
Фиг. 3В



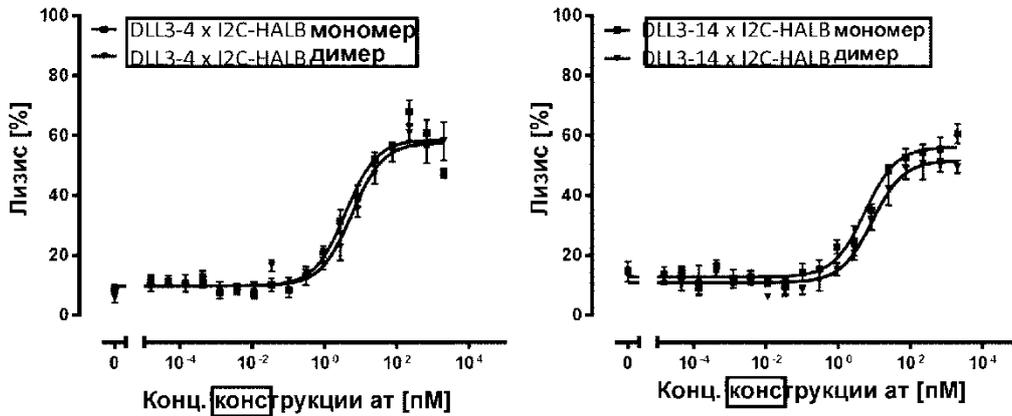
Фиг. 3С



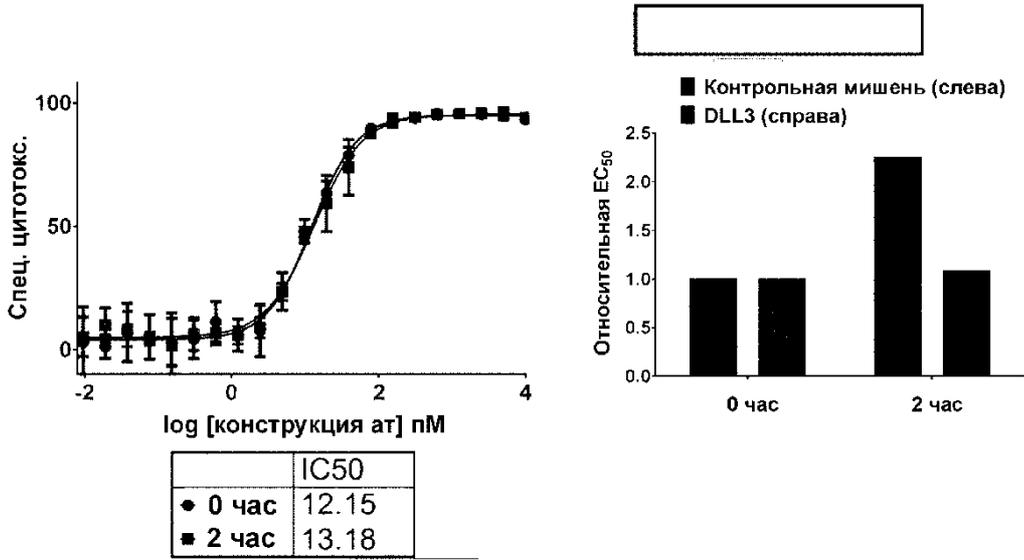
Фиг. 4



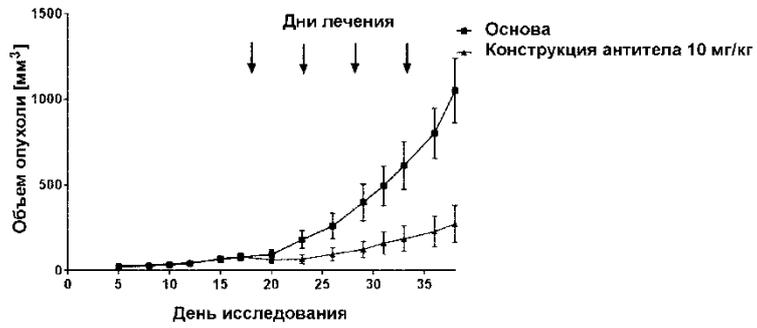
Фиг. 5



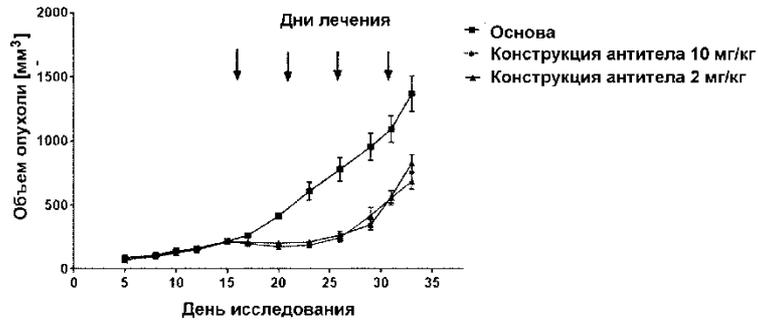
Фиг. 6



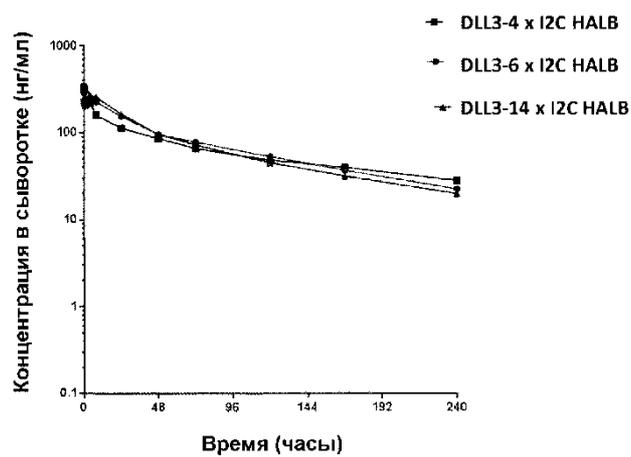
Фиг. 7



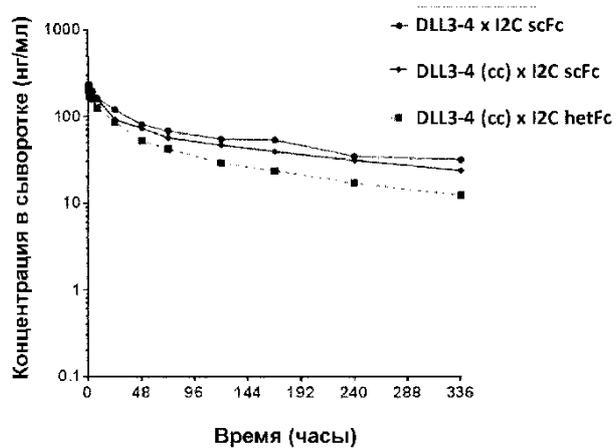
Фиг. 8А



Фиг. 8В



Фиг. 9А



Фиг. 9В

