

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202292358** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.12.06

(22) Дата подачи заявки
2021.02.19

(51) Int. Cl. *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)

(54) СКОНСТРУИРОВАННЫЕ БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИ-HER2 БЕЛКИ

(31) **62/978,758**

(32) **2020.02.19**

(33) **US**

(86) **PCT/US2021/018705**

(87) **WO 2021/168194 2021.08.26**

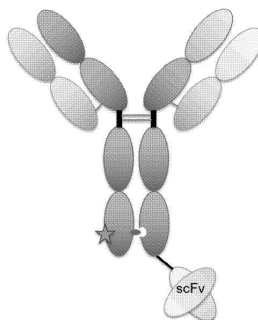
(71) Заявитель:
ДЕНАЛИ ТЕРАПЬЮТИКС ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Каннан Гунасекаран, Ким То Чин,
Кван Ванда, Тун Реймонд Ка Хан (US)**

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

(57) В одном аспекте предложены биспецифические белки, имеющие способность специфически связываться как с субдоменом II HER2 человека, так и с субдоменом IV HER2 человека. В еще одном аспекте предложены способы лечения рака или лечения метастазов в головной мозг при раке с применением биспецифического белка, который специфически связывается с субдоменом II и субдоменом IV HER2 человека.

Моновалентный scFv на С-конце HC



A1

202292358

202292358

A1

СКОНСТРУИРОВАННЫЕ БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИ-HER2 БЕЛКИ

Перекрестная ссылка на родственную заявку

Настоящая заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке США № 62/978758, поданной 19 февраля 2020 г., раскрытие которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей.

Уровень техники

Лечение метастазов в головной мозг при раке, таком как рак молочной железы, в настоящее время представляет собой сложную клиническую задачу. Среди пациентов с раком молочной железы частота метастазирования в головной мозг достигает 50%. Клинические данные указывают на склонность HER2-положительного рака молочной железы к метастазированию в головной мозг. Примечательно, что терапевтические средства против HER2 оказались полезными для контроля экстракраниальных опухолей, но не интракраниальных поражений. Неспособность этих терапевтических средств контролировать метастатические поражения, такие как метастазы в головной мозг HER2-положительного рака молочной железы, в основном объясняется неспособностью терапевтических агентов преодолевать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и получать доступ к паренхиме мозга.

Краткое описание сущности изобретения

В одном аспекте настоящее изобретение относится к белку, содержащему:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab;
- (b) второй полипептид Fc, слитый на N-конце с одноцепочечным варибельным фрагментом (scFv), причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
- (c) полипептид легкой цепи, который образует пару с Fd-частью, указанной в (a), с образованием Fab,

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека. В некоторых вариантах осуществления Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека. В других вариантах осуществления Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека.

В некоторых вариантах осуществления данного белка второй полипептид Fc слит с scFv через первый линкер. Первый линкер может иметь длину от 1 до 20 аминокислот, например, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:118).

В некоторых вариантах осуществления данного белка scFv содержит область V_L и область V_H, которые соединены вторым линкером. Второй линкер может иметь длину от 1 до 20 аминокислот, например, последовательность любого из GGS⁵GGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GGSG)⁵), GGGGS (SEQ ID NO:117; G4S), GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:118; (G4S)²), GGGGS³GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:119; (G4S)³), GGGGS²GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:120; (G4S)²-G4), GGGGS²GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:121), GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:122), и GGGGS²GGGGS²GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:123).

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc специфически связывается с трансферриновым рецептором (например, содержит любую из модификаций последовательности, описанных в данном документе, которые создают сайт связывания TfR). В некоторых вариантах осуществления каждый из первого полипептида Fc и второго полипептида Fc содержит модификации, которые способствуют гетеродимеризации. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит замену T366W, а второй полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. В других вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит замену T366W в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат модификации, снижающие эффекторную функцию. В определенных вариантах осуществления модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления данного белка шарнирная область или ее часть связана с N-концом первого полипептида Fc и/или второго полипептида Fc.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:131-149. В конкретных вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO:135-139.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413,

Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO:135-139.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Tpr в положении 366, Tug в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Tpr в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137, и второй полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368, и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133.

В других вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133, и второй полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Tpr в положении 366, Tug в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Tpr в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416, и Phe в положении 421 согласно нумерации EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137.

В некоторых вариантах осуществления данного белка

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:21, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например,

(vii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:13, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(viii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 11 или 12, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(ix) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:22, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(x) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:5, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:18, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления белок включает конфигурацию цис-LALA, описанную ниже.

В еще одном аспекте изобретение относится к белку, содержащему:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab;
 - (b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
 - (c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой Fd-частью, указанной в (a) и (b), с образованием Fab;
- причем первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc слиты на C-конце с scFv, или
- при этом Fd-часть в (a) и/или (b) слита на N-конце с scFv, или
- при этом первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слит на C-конце с scFv, а Fd-часть в (a) или (b) слита на N-конце с scFv, и

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc слиты на C-конце с scFv. В некоторых вариантах осуществления Fd-часть в (a) и/или (b) слита на N-конце с scFv.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слит на C-конце с scFv, а Fd-часть в (a) или (b) слита на N-конце с scFv.

В некоторых вариантах осуществления данного белка Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека. В других вариантах осуществления Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека.

В некоторых вариантах осуществления данного белка scFv, слитый с первым полипептидом Fc и/или вторым полипептидом Fc, содержит идентичные последовательности. В других вариантах осуществления scFv, слитый с Fd-частью в (a) и/или (b), содержит идентичные последовательности.

В некоторых вариантах реализации данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc слиты с scFv через первый линкер. В некоторых вариантах осуществления Fd-часть в (a) и/или (b) слита с scFv через первый линкер. В некоторых вариантах осуществления первый линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот, например, любую последовательность из GGSGGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GGSG)5), GGGGS (SEQ ID NO:117; G4S), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:118; (G4S)2), GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:119; (G4S)3), GGGSGGGSGGGG (SEQ ID NO:120; (G4S)2-G4), GGGSGGGSGG (SEQ ID NO:121), GGGSGGGGS (SEQ ID

NO:122) и GGGGGS GGGGGS GGGGS (SEQ ID NO:123).

В некоторых вариантах осуществления данного белка scFv содержит область V_L и область V_H, которые соединены вторым линкером. В некоторых вариантах осуществления второй линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот, например, любую последовательность из GGS GGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GSG)⁵), GGGGS (SEQ ID NO:117; G₄S), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:118; (G₄S)²), GGGGSGGGGS GGGGS (SEQ ID NO:119; (G₄S)³), GGGGSGGGGS GGGG (SEQ ID NO:120; (G₄S)²-G₄), GGGGSGGGSGG (SEQ ID NO:121), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGGGS GGGGGS GGGGS (SEQ ID NO:123).

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc специфически связывается с трансферриновым рецептором (например, содержит любую из модификаций последовательности, описанных в данном документе, которые создают сайт связывания TfR). В некоторых вариантах осуществления каждый из первого полипептида Fc и второго полипептида Fc содержит модификации, которые способствуют гетеродимеризации. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит замену T366W, а второй полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. В других вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит замену T366W в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат модификации, снижающие эффекторную функцию. В определенных вариантах осуществления модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область или ее часть связана с N-концом первого полипептида Fc и/или второго полипептида Fc. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:131-149. В конкретных вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO:135-139.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат Tug в положении 384, Thr в положении 386,

Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO:135-139.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137, и второй полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368, и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133.

В других вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133, и второй полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416, и Phe в положении 421 согласно нумерации EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137.

В некоторых вариантах осуществления данного белка

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 27 или 28, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%)

(viii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 37 или 39, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(ix) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:37, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(x) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:157, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, и каждый из двух полипептидов

легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления данного белка

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 27 или 28, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:31, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:29, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:30, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 33 или 34, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 37 или 39, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(iv) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:35, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:36, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с

последовательностью SEQ ID NO:26; или

(v) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 33, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:38, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления данного белка

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 40, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:41, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:42, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(iv) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например,

(vi) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:47, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(vii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:48, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(viii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:49, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%)

идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(ix) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:44, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(x) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:50, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательности SEQ ID NO:6, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(xi) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:156, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательности SEQ ID NO:6, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления данного белка

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 40, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:43, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90%

91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:46, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:156, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слит на C-конце с scFv, а Fd-часть в (a) или (b) слита на N-конце с scFv, и причем

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 40, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:31, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:41, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:30, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:42, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:29, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(iv) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например,

идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 33 или 34, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления белок включает конфигурацию цис-LALA, описанную ниже.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к белку, содержащему:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab;
- (b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
- (c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой Fd-частью, указанной в (a) и (b), с образованием Fab;

причем один или оба полипептида легкой цепи слиты на N-конце с scFv, или при этом один или оба полипептида легкой цепи слиты на C-конце с scFv, или при этом первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv, а второй полипептид легкой цепи слит на C-конце с scFv, и

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека.

В некоторых вариантах осуществления данного белка один или оба полипептида легкой цепи слиты на N-конце с scFv. В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида легкой цепи слиты на C-конце с scFv.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv, а второй полипептид легкой цепи слит на C-конце с scFv.

В некоторых вариантах осуществления данного белка Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека. В некоторых вариантах осуществления Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека.

В некоторых вариантах осуществления данного белка scFv, слитый с одним или обоими полипептидами легкой цепи, содержит идентичные последовательности.

В некоторых вариантах осуществления данного белка один или оба полипептида легкой цепи слиты с scFv через первый линкер. В некоторых вариантах осуществления

первый линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот, любую последовательность из GGS⁵GGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GSG)⁵), GGGGS (SEQ ID NO:117; G⁴S), GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:118; (G⁴S)²), GGGGS³GGGGS³GGGGS (SEQ ID NO:119; (G⁴S)³), GGGGS²GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:120; (G⁴S)²-G⁴), GGGGS²GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:121), GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGGS²GGGGS²GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:123).

В некоторых вариантах осуществления данного белка scFv содержит область V_L и область V_H, которые соединены вторым линкером. В некоторых вариантах осуществления второй линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот, любую последовательность из GGS⁵GGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GSG)⁵), GGGGS (SEQ ID NO:117; G⁴S), GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:118; (G⁴S)²), GGGGS³GGGGS³GGGGS (SEQ ID NO:119; (G⁴S)³), GGGGS²GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:120; (G⁴S)²-G⁴), GGGGS²GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:121), GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGGS²GGGGS²GGGGS²GGGGS (SEQ ID NO:123).

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc специфически связывается с трансферриновым рецептором (например, содержит любую из модификаций последовательности, описанных в данном документе, которые создают сайт связывания TfR). В некоторых вариантах осуществления каждый из первого полипептида Fc и второго полипептида Fc содержит модификации, которые способствуют гетеродимеризации. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит замену T366W, а второй полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит замену T366W в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат модификации, снижающие эффекторную функцию. В некоторых вариантах осуществления модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления данного белка шарнирная область или ее часть связана с N-концом первого полипептида Fc и/или второго полипептида Fc.

В некоторых вариантах реализации данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID

NO:131-149. В конкретных вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 135-139.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO:135-139.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137, и второй полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368, и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133.

В других вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133, и второй полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416, и Phe в положении 421 согласно нумерации EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137.

В некоторых вариантах осуществления данного белка

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например,

91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4, первый полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичность с последовательностью SEQ ID NO:52, и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, первый полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:52, и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9, первый полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 53 или 54, и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(iv) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по

меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, первый полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичность с последовательностью SEQ ID NO: 53 или 54, и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления данного белка

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:52; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:52; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:53 или 54; или

(iv) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с

последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:53 или 54.

В некоторых вариантах осуществления данного белка

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичность с последовательностью SEQ ID NO:55, и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55, и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90%

(например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 56 или 57, и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(iv) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичность с последовательностью SEQ ID NO: 56 или 57, и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления данного белка

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с

последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:56 или 57; или

(iv) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:56 или 57.

В некоторых вариантах осуществления данного белка

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55, и второй полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:52; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55, и второй полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%,

92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:52; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 56 или 57, и второй полипептид легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:53 или 54 и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(iv) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 56 или 57, и второй полипептид легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:53 или 54 и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления белок включает конфигурацию цис-LALA, описанную ниже.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к белку, содержащему:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой Fd-частью, указанной в (a) и (b), с образованием Fab;

причем каждая из Fd-частей в (a) и (b) слита на N-конце с областью V_H или областью V_L фрагмента Fv, и

при этом каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с другой областью V_H или областью V_L фрагмента Fv, и

при этом область V_H и область V_L вместе образуют фрагмент Fv, и

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом II HER2 человека.

В некоторых вариантах осуществления данного белка Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом IV HER2 человека. В некоторых вариантах осуществления Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом II HER2 человека.

В некоторых вариантах осуществления данного белка каждая из частей Fd в (a) и (b) слита на N-конце с областью V_H или областью V_L через первый линкер. В некоторых вариантах осуществления первый линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот, например, последовательность ASTKGPSVF (SEQ ID NO:125).

В некоторых вариантах осуществления данного белка каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с областью V_H или областью V_L через второй линкер. В некоторых вариантах осуществления второй линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот, например, последовательность RTVAAPSVFI (SEQ ID NO:126).

В некоторых вариантах осуществления данного белка каждая из частей Fd в (a) и (b) слита на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с областью V_L фрагмента Fv.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc специфически связывается с трансферриновым рецептором (например, содержит любую из модификаций последовательности, описанных в данном документе, которые создают сайт связывания TfR). В некоторых вариантах осуществления каждый из первого полипептида Fc и второго полипептида Fc содержит модификации, которые способствуют гетеродимеризации. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит замену T366W, а второй полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. В других

вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит замену T366W в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат модификации, снижающие эффекторную функцию. В конкретных вариантах осуществления модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления данного белка шарнирная область или ее часть связана с N-концом первого полипептида Fc и/или второго полипептида Fc.

В некоторых вариантах реализации данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:131-149. В конкретных вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 135-139.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO:135-139.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137, и второй полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368, и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133.

В других вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит

Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133, и второй полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416, и Phe в положении 421 согласно нумерации EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137.

В некоторых вариантах осуществления данного белка

(i) первый полипептид, содержащий (a), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:58, второй полипептид, содержащий (b), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:61, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_L фрагмента Fv, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:78; или

(ii) первый полипептид, содержащий (a), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:59, второй полипептид, содержащий (b), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:60, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_L фрагмента Fv, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:78; или

(iii) первый полипептид, содержащий (a), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%,

92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:63, второй полипептид, содержащий (b), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:66, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_L фрагмента Fv, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:79; или

(iv) первый полипептид, содержащий (a), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:64, второй полипептид, содержащий (b), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:65, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_L фрагмента Fv, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:79; или

(v) первый полипептид, содержащий (a), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:63, второй полипептид, содержащий (b), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:67, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_L фрагмента Fv, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:79.

В некоторых вариантах осуществления данного белка

(i) первый полипептид, содержащий (a), слитый на N-конце с областью V_L фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с

последовательностью SEQ ID NO:68, второй полипептид, содержащий (b), слитый на N-конце с областью VL фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:71, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:80; или

(ii) первый полипептид, содержащий (a), слитый на N-конце с областью VL фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:69, второй полипептид, содержащий (b), слитый на N-конце с областью VL фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:70, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:80; или

(iii) первый полипептид, содержащий (a), слитый на N-конце с областью VL фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:73, второй полипептид, содержащий (b), слитый на N-конце с областью VL фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:76, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:81; или

(iv) первый полипептид, содержащий (a), слитый на N-конце с областью VL фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:74, второй полипептид, содержащий (b), слитый на N-конце с областью VL фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере

90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:75, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:81.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В других вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления белок включает конфигурацию цис-LALA, описанную ниже.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к белку, содержащему:

(a) первый полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab и слит на C-конце с областью V_H или областью V_L фрагмента Fv;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab и слит на C-конце с другой областью V_H или областью V_L, указанными в (a),

причем область V_H и область V_L вместе образуют фрагмент Fv, и при этом первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой Fd-частью, указанной в (a) и (b), с образованием Fab;

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом II HER2 человека. В некоторых вариантах осуществления Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом IV HER2 человека. В некоторых вариантах осуществления Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом II HER2 человека.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc слит с областью V_H фрагмента Fv, а второй полипептид Fc слит с областью V_L фрагмента Fv. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc слит с областью V_L фрагмента Fv, а второй полипептид Fc слит с областью V_H фрагмента Fv. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc слиты на C-конце с областью V_H или областью V_L через первый линкер.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот, например, любую последовательность из

GGSGGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GGSG)5), GGGGS (SEQ ID NO:117; G4S), GGGGS (SEQ ID NO:118; (G4S)2), GGGGS (SEQ ID NO:119; (G4S)3), GGGGS (SEQ ID NO:120; (G4S)2-G4), GGGGS (SEQ ID NO:121), GGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGGS (SEQ ID NO:123).

В некоторых вариантах осуществления этого белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc специфически связывается с трансферриновым рецептором (например, содержит любую из модификаций последовательности, описанных в данном документе, которые создают сайт связывания TfR). В некоторых вариантах осуществления каждый из первого полипептида Fc и второго полипептида Fc содержит модификации, которые способствуют гетеродимеризации. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит замену T366W, а второй полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. В других вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит замену T366W в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат модификации, снижающие эффекторную функцию. В определенных вариантах осуществления модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления данного белка шарнирная область или ее часть связана с N-концом первого полипептида Fc и/или второго полипептида Fc.

В некоторых вариантах реализации данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:131-149. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO:135-139.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с

последовательностью, выбранной из SEQ ID NO:135-139.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137, и второй полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368, и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133.

В других вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133, и второй полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416, и Phe в положении 421 согласно нумерации EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137.

В некоторых вариантах осуществления данного белка

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 82 или 83, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 99 или 100, и каждая из двух легких цепей в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:84, (b) содержит последовательность, имеющую по

91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:90, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:107, и каждая из двух легких цепей в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26, или

(xii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:90, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:158, и каждая из двух легких цепей в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления данного белка первый полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В других вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления белок включает конфигурацию цис-LALA, описанную ниже.

В еще одном аспекте изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая любой из описанных в данном документе белков и фармацевтически приемлемый носитель.

В еще одном аспекте изобретения предложен выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую белок, описанный в данном документе.

В еще одном аспекте изобретения предложен вектор, содержащий полинуклеотид по предыдущему аспекту.

В еще одном аспекте изобретения предложена клетка-хозяин, содержащая полинуклеотид или вектор.

В еще одном аспекте изобретения предложен способ лечения рака или лечения метастазов в головной мозг при раке у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества белка, описанного в данном документе, или содержащей его фармацевтической композиции.

В некоторых вариантах способа белок применяют в комбинации с химиотерапией

или лучевой терапией.

В некоторых вариантах осуществления способа рак представляет собой метастатический рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой HER2-положительный рак.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1А представлено схематическое изображение, показывающее иллюстративный биспецифический белок, имеющий структуру «полипептид Fab-Fc/полипептид scFv-Fc», в которой scFv слит с N-концом полипептида Fc, имеющего сайт связывания TfR (обозначен звездочкой), и мутация типа «выступ» через шарнирную или частичную шарнирную область, в то время как другой полипептид Fc имеет мутацию типа «впадина».

На фиг. 1В представлено схематическое изображение, показывающее иллюстративный биспецифический белок, имеющий структуру «полипептид Fab-Fc/полипептид scFv-Fc», в которой scFv слит с N-концом полипептида Fc с мутацией типа «впадина» через шарнирную или частичную шарнирную область, в то время как другой полипептид Fc имеет сайт связывания TfR (отмечен звездочкой) и мутацию типа «выступ».

На фиг. 2А представлено схематическое изображение, показывающее иллюстративный биспецифический белок, имеющий структуру «мкАт/N-концевой или C-концевой scFv на HC», в которой scFv слит с C-концом полипептида Fc, имеющего мутацию типа «впадина», в то время как другой полипептид Fc имеет сайт связывания TfR (обозначен звездочкой) и мутацию типа «выступ».

На фиг. 2В представлено схематическое изображение, показывающее иллюстративный биспецифический белок, имеющий структуру «мкАт/N-концевой или C-концевой scFv на HC», в которой scFv слит с N-концом Fd-части через линкер. scFv слит с Fd-частью тяжелой цепи, содержащей полипептид Fc, имеющий мутацию типа «впадина», в то время как другой полипептид Fc имеет сайт связывания TfR (обозначен звездочкой) и мутацию «выступ».

На фиг. 2С представлено схематическое изображение, показывающее иллюстративный биспецифический белок, имеющий структуру «мкАт/N-концевой или C-концевой scFv на HC», в которой каждый из двух scFv слит с N-концом Fd-части тяжелой цепи через линкер. Сайт связывания TfR на полипептиде Fc обозначен звездочкой.

На фиг. 2D представлено схематическое изображение, показывающее иллюстративный биспецифический белок, имеющий структуру «мкАт/N-концевой или C-

концевой scFv на HC», в которой каждый из двух scFv слит с С-концом полипептида Fc тяжелой цепи через линкер. Сайт связывания TfR на полипептиде Fc обозначен звездочкой.

На фиг. 3А представлено схематическое изображение, показывающее иллюстративный биспецифический белок, имеющий структуру «мкАт/Н-концевой или С-концевой scFv на LC», в которой scFv слит с С-концом легкой цепи через линкер. Сайт связывания TfR на полипептиде Fc обозначен звездочкой.

На фиг. 3В представлено схематическое изображение, показывающее иллюстративный биспецифический белок, имеющий структуру «мкАт/Н-концевой или С-концевой scFv на LC», в которой scFv слит с N-концом легкой цепи через линкер. Сайт связывания TfR на полипептиде Fc обозначен звездочкой.

На фиг. 3С представлено схематическое изображение, показывающее иллюстративный биспецифический белок, имеющий структуру «мкАт/Н-концевой или С-концевой scFv на LC», в которой каждый из двух scFv слит с N-концом легкой цепи через линкер. Сайт связывания TfR на полипептиде Fc обозначен звездочкой.

На фиг. 3D представлено схематическое изображение, показывающее иллюстративный биспецифический белок, имеющий структуру «мкАт/Н-концевой или С-концевой scFv на LC», в которой каждый из двух scFv слит с С-концом легкой цепи через линкер. Сайт связывания TfR на полипептиде Fc обозначен звездочкой.

На фиг. 4 представлено схематическое изображение, показывающее иллюстративный биспецифический белок, имеющий структуру «мкАт/Н-концевая V_H V_L на HC и LC», в которой каждая из двух областей V_H слита с N-концом Fd-участка тяжелой цепи, а две области V_L слиты с N-концом легкой цепи. Область V_H и область V_L образуют фрагмент Fv. Сайт связывания TfR на полипептиде Fc обозначен звездочкой.

На фиг. 5 представлено схематическое изображение, показывающее иллюстративный биспецифический белок, имеющий структуру «мкАт/С-концевая V_H V_L на HC», в которой область V_H слита с С-концом полипептида Fc, имеющего мутацию типа «впадина», а область V_L слита с С-концом полипептида Fc, имеющего сайт связывания TfR (отмечен звездочкой) и мутацию типа «выступ». Область V_H и область V_L образуют фрагмент Fv.

На фиг. 6А и 6В показано ингибирование пролиферации раковых клеток биспецифическими белками, имеющими структуру «полипептид Fab-Fc/полипептид scFv-Fc», на 6-й и 3-й день в анализе ингибирования роста клеток BT474 и OE19, соответственно.

На фиг. 7 представляет собой график, показывающий ФК профиль

биспецифических белков к HER2 и контролей к HER2 в плазме у мышей C57/BL6.

На фиг. 8A представлен график, показывающий количественную оценку ретикулоцитов у мышей TfR^{mu/hu} KI, которым внутривенно вводили биспецифические белки к HER2 или контроли к HER2.

На фиг. 8B представлен график, показывающий ФК профиль биспецифических белков к HER2 и контролей к HER2 в плазме у мышей TfR^{mu/hu} KI.

На фиг. 8C представлен график, показывающий ФК профиль головного мозга биспецифических белков к HER2 и контролей к HER2 в головном мозге у мышей TfR^{mu/hu} KI.

На фиг. 8D представлен график, показывающий процентное соотношение концентраций биспецифических белков к HER2 и контролей к HER2 для головного мозга и плазмы у мышей TfR^{mu/hu} KI.

На фиг. 9A-9F показаны анализы ингибирования роста клеток BT474 с (фиг. 9A-9C) или без (фиг. 9D-9F) NRG1 с помощью биспецифических белков к HER2 и контролей к HER2.

На фиг. 9G-9I показан анализ ингибирования роста клеток OE19 биспецифическими белками к HER2 и контролями к HER2.

На фиг. 9J-9L показан анализ ингибирования роста клеток ZR75 биспецифическими белками к HER2 и контролями к HER2.

Подробное описание сущности изобретения

I. ВВЕДЕНИЕ

В одном аспекте предложены биспецифические белки, которые могут связываться как с субдоменом II HER2 человека, так и с субдоменом IV HER2 человека. Биспецифические белки могут, в общем, вырабатываться без неправильного спаривания или взаимодействия легких цепей. В некоторых вариантах осуществления биспецифические белки моновалентно связываются с каждым субдоменом-мишенью HER2 человека. В некоторых вариантах осуществления биспецифические белки связываются с одним субдоменом-мишенью HER2 человека моновалентно и с другим субдоменом-мишенью HER2 человека двухвалентно (например, с субдоменом II моновалентно и с субдоменом IV двухвалентно, или с субдоменом IV моновалентно и с субдоменом II двухвалентно). В некоторых вариантах осуществления биспецифические белки двухвалентно связываются с каждым субдоменом-мишенью HER2 человека. Различные структуры биспецифических белков подробно описаны далее в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит scFv,

который связывается с субдоменом II (или субдоменом IV) HER2 человека, и Fab, который связывается с субдоменом IV (или субдоменом II) HER2 человека (см., например, «полипептид Fab-Fc/полипептид scFv-Fc» в разделе III). В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит один или более scFv, которые связаны с N- или C-концом тяжелых цепей биспецифического белка, в котором scFv связывается с субдоменом II (или субдоменом IV) HER2 человека и Fab в биспецифическом белке связывается с субдоменом IV (или субдоменом II) человеческого HER2 (см., например, структуру «мкАт/N-концевой или C-концевой scFv на HC» в разделе III). В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит один или более scFv, которые связаны с N- или C-концом легких цепей биспецифического белка, в котором scFv связывается с субдоменом II (или субдоменом IV) HER2 человека и Fab в биспецифическом белке связывается с субдоменом IV (или субдоменом II) HER2 человека (см., например, «мкАт/N-концевой или C-концевой scFv на HC мкАт/N-концевой или C-концевой scFv на LC» в разделе III). В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит область V_H (или область V_L) фрагмента Fv, соединенную с N-концом тяжелых цепей, и область V_L (или область V_H) фрагмента Fv, соединенную с N-концом легкой цепи, в котором фрагмент Fv связывается с субдоменом II (или субдоменом IV) HER2 человека, а Fab в биспецифическом белке связывается с субдоменом IV (или субдоменом II) HER2 человека (см., например, «мкАт/ N-концевая V_H V_L на HC и LC» в разделе III). В других вариантах осуществления биспецифический белок содержит область V_H (или область V_L) фрагмента Fv, соединенную с C-концом одной из двух тяжелых цепей в биспецифическом белке, и область V_L (или область V_H) фрагмента Fv, соединенную с C-концом другой из двух тяжелых цепей, причем фрагмент Fv связывается с субдоменом II (или субдоменом IV) HER2 человека, а Fab в биспецифическом белке связывается с субдоменом IV (или субдоменом II) HER2 человека (см., например, структуру «мкАт/C-концевой V_H V_L на HC» в разделе III).

Ранее полученные терапевтические средства не помогли справиться с метастазами в головной мозг при HER2-положительном раке молочной железы в основном из-за неспособности терапевтических агентов проникнуть через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и получить доступ к паренхиме головного мозга. Таким образом, существует потребность в новых терапевтических агентах, которые могут проникать через ГЭБ и воздействовать на HER2 в паренхиме головного мозга. Ранее мы описали использование связывания трансферринового рецептора (TfR) в качестве метода для обеспечения доставки через ГЭБ через эндотелий головного мозга, поскольку TfR высоко экспрессируется в эндотелиальных клетках мозга и может обеспечить доставку через ГЭБ

посредством рецепторно-опосредованного трансцитоза. Интересно, что TfR высоко экспрессируется при различных видах рака, включая HER2-положительный рак молочной железы. Механизм, с помощью которого раковые клетки приобретают повышенную экспрессию TfR, вероятно, связан с пролиферацией опухолевых клеток и повышенной метаболической потребностью, такой как поглощение железа. Фактически, общедоступные наборы данных микроматричного анализа продемонстрировали корреляцию экспрессии TfR с прогнозом рака молочной железы (Miller et al., *Cancer Res.* 71:6728, 2011). Также было несколько сообщений об использовании TfR в качестве фармакологической мишени для различных видов рака.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит один или более модифицированных полипептидов Fc, которые специфически связываются с рецептором ГЭБ, например, TfR (т.е. TfR-связывающие полипептиды Fc). В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок способен транспортироваться через ГЭБ. В некоторых вариантах осуществления биспецифические белки к HER2, связывающиеся как с HER2, так и с TfR, как описано в данном документе, могут обеспечивать дополнительные противоопухолевые эффекты при связывании с HER2-положительными опухолевыми клетками, которые также экспрессируют высокие уровни TfR, по сравнению с другими терапевтическими агентами, которые связываются только с HER2. В частности, поскольку эти белки могут одновременно связываться как с TfR, так и с HER2, это может повысить их активность и/или эффективность.

II. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Употребляемые в данном документе формы единственного числа включают ссылки на формы множественного числа, если из контекста явно не следует иное. Таким образом, например, ссылка на «антитело» необязательно включает комбинацию двух или более таких молекул и тому подобное.

Используемые в данном документе, термины «около» и «приблизительно», когда они используются для изменения количества, указанного в числовом значении или диапазоне, указывают, что числовое значение, а также разумные отклонения от значения, известные специалисту в данной области техники, например $\pm 20\%$, $\pm 10\%$ или $\pm 5\%$, находятся в пределах предполагаемого значения указанного значения.

Используемый в данном документе термин «антитело» относится к белку с характерной для иммуноглобулинов укладкой цепей, который специфически связывается с антигеном через свои переменные области. Термин охватывает интактные поликлональные антитела, интактные моноклональные антитела, одноцепочечные антитела, полиспецифические антитела, такие как биспецифические антитела,

моноспецифические антитела, моновалентные антитела, химерные антитела, гуманизированные антитела и человеческие антитела. Термин «антитело», используемый в данном документе, также включает фрагменты антител, которые сохраняют антигенсвязывающую специфичность, включая, помимо прочего, Fab, F(ab')₂, Fv, scFv и двухвалентный scFv. Антитела могут содержать легкие цепи, которые классифицируются как каппа или лямбда. Антитела могут содержать тяжелые цепи, которые классифицируются как гамма, мю, альфа, дельта или эpsilon, которые, в свою очередь, определяют классы иммуноглобулинов, IgG, IgM, IgA, IgD и IgE, соответственно.

Иллюстративная структурная единица иммуноглобулина (антитела) содержит тетрамер. Каждый тетрамер состоит из двух идентичных пар полипептидных цепей, каждая из которых имеет одну «легкую» (около 25 кДа) и одну «тяжелую» цепь (около 50-70 кДа). N-конец каждой цепи определяет вариабельную область от около 100 до 110 или более аминокислот, в основном ответственных за распознавание антигена. Термины «вариабельная область легкой цепи» (V_L) и «вариабельная область тяжелой цепи» (V_H) относятся к этим легкой и тяжелой цепям, соответственно.

Термин «вариабельная область» или «вариабельный домен» относится к домену в тяжелой цепи или легкой цепи антитела, полученному из гена вариабельности (V), гена разнообразия (D) или гена присоединения (J) зародышевой линии (и не происходит из генного сегмента константной области (C_μ и C_δ)), и это придает антителу его специфичность в отношении связывания с антигеном. Как правило, вариабельная область антитела включает четыре консервативные «каркасные» области, перемежающихся с тремя гипервариабельными «определяющими комплементарность областями».

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

«Каркасные области» или «FR» различных легких или тяжелых цепей относительно консервативны в пределах вида. Каркасная область антитела, то есть, объединенные каркасные области составляющих легкой и тяжелой цепей, служит для

локализации и выравнивания CDR в трехмерном пространстве. Каркасные последовательности могут быть получены из общедоступных баз данных ДНК или опубликованных ссылок, которые включают последовательности генов антител зародышевой линии. Например, последовательности ДНК зародышевой линии для генов вариабельной области тяжелой и легкой цепей человека можно найти в базе данных вариабельных генов зародышевой линии «VBASE2» для последовательностей человека и мыши.

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

Термин «Fd-часть» относится к N-концевой части тяжелой цепи иммуноглобулина. Как правило, Fd-часть включает вариабельную область тяжелой цепи (VH) и константную область тяжелой цепи (CH1).

Термин «Fab» относится к антигенсвязывающему фрагменту, состоящему из вариабельной области легкой цепи, константной области легкой цепи, вариабельной области тяжелой цепи и константной области CH1 тяжелой цепи.

Термин «одноцепочечный вариабельный фрагмент» или «scFv» относится к антигенсвязывающему фрагменту, состоящему из вариабельной области тяжелой цепи и вариабельной области легкой цепи, связанных друг с другом через пептидный линкер. В scFv отсутствуют константные области.

Термин «фрагмент Fv» относится к антигенсвязывающему фрагменту, состоящему из вариабельной области тяжелой цепи и вариабельной области легкой цепи, которые вместе образуют сайт связывания антигена.

Термин «эпитоп» относится к области или области антигена, с которой молекула, например, CDR антитела, специфически связывается, и может включать несколько аминокислот или части нескольких аминокислот, например, 5 или 6 или более, например, 20 или более аминокислот или частей этих аминокислот. В некоторых случаях эпитоп включает в себя небелковые компоненты, например, выбранные из углевода, нуклеиновой кислоты или липида. В некоторых случаях эпитоп представляет собой трехмерный фрагмент. Так, например, когда мишенью является белок, эпитоп может состоять из

последовательных аминокислот (например, линейного эпитопа) или аминокислот из разных частей белка, которые сближаются при укладке белка (например, прерывистый или конформационный эпитоп).

Используемая в данном документе фраза «распознает эпитоп», используемая в отношении антитела, означает, что CDR антитела взаимодействуют или специфически связываются с антигеном в этом эпитопе или части антигена, содержащей этот эпитоп.

«Гуманизированное антитело» представляет собой химерный иммуноглобулин, полученный из не относящегося к человеку источника (например, мышиный), который содержит минимальные последовательности, полученные из не относящегося к человеку иммуноглобулина вне CDR. В общем, гуманизированное антитело будет содержать по меньшей мере один (например, два) вариабельный домен(-ы), в котором области CDR по существу соответствуют областям иммуноглобулина не относящегося к человеку животного, а каркасные области по существу соответствуют областям последовательности иммуноглобулина человека. В некоторых случаях некоторые остатки каркасной области человеческого иммуноглобулина могут быть заменены соответствующими остатками отличного от человека вида, например, для улучшения специфичности, аффинности и/или периода полужизни в сыворотке. Гуманизированное антитело также может содержать по меньшей мере часть константной области (Fc) иммуноглобулина, как правило, последовательность иммуноглобулина человека. Способы гуманизации антител известны в данной области техники.

«Человеческое антитело» или «полностью человеческое антитело» представляет собой антитело, имеющее последовательности тяжелой и легкой цепей человека, обычно полученные из генов зародышевой линии человека. В некоторых вариантах осуществления антитело продуцируется клеткой человека, животным, отличным от человека, которое использует репертуар антител человека (например, трансгенные мыши, которые генетически сконструированы для экспрессии последовательностей антител человека) или платформами фагового дисплея.

Термин «специфически связывается» относится к молекуле (например, Fab, scFv или модифицированному полипептиду Fc (или его части, связывающейся с мишенью)), которая связывается с эпитопом или мишенью с большей аффинностью, большей авидностью и/или большей продолжительностью связывания с этим эпитопом или мишенью в образце, чем она связывается с другим эпитопом или нецелевым соединением (например, структурно отличающимся антигеном). В некоторых вариантах осуществления Fab, scFv или модифицированный полипептид Fc (или его часть, связывающаяся с мишенью), который специфически связывается с эпитопом или

мишенью, представляет собой полипептид Fab, scFv или модифицированный Fc (или его часть, связывающуюся с мишенью), который связывается с эпитопом или мишенью с по меньшей мере в 5 раз большей аффинностью, чем с другими эпитопами или нецелевыми соединениями, например, с по меньшей мере в 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 25 раз, 50 раз, 100 раз, 1000 раз, 10000 раз или большей аффинностью. Термин «специфическое связывание», «специфически связывается с» или «является специфичным в отношении» конкретного эпитопа или мишени, используемый в данном документе, может проявляться, например, молекулой, имеющей равновесную константу диссоциации K_D для эпитопа или мишени, с которыми она связывается, например, 10^{-4} М или меньше, например, 10^{-5} М, 10^{-6} М, 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М, или 10^{-12} М. Специалисту в данной области техники будет понятно, что Fab или scFv, которые специфически связываются с мишенью одного вида, могут также специфически связываться с ортологами этой мишени.

Термин «аффинность связывания» используется в данном документе для обозначения силы нековалентного взаимодействия между двумя молекулами, например, между Fab или scFv и антигеном, или между модифицированным полипептидом Fc (или его частью, связывающейся с мишенью) и мишенью. Так, например, термин может относиться к взаимодействиям 1:1 между Fab или scFv и антигеном или между модифицированным полипептидом Fc (или его частью, связывающейся с мишенью) и мишенью, если не указано иное или не ясно из контекста. Аффинность связывания может быть определена количественно путем измерения равновесной константы диссоциации (K_D), которая относится к константе скорости диссоциации (k_d , время⁻¹), деленной на константу скорости ассоциации (k_a , время⁻¹ М⁻¹). K_D можно определить путем измерения кинетики образования и диссоциации комплекса, например, с использованием методов поверхностного плазмонного резонанса (ППР), например, системы Biacore™; анализ кинетического исключения, такие как KinExA®; и интерферометрии BioLayer (например, с использованием платформы ForteBio® Octet). Используемый в данном документе термин «аффинность связывания» включает не только формальные аффинности связывания, такие как взаимодействия 1:1 между Fab или scFv и антигеном или между модифицированным полипептидом Fc (или его частью, связывающейся с мишенью) и мишенью, но и кажущиеся аффинности, для которых рассчитываются K_D , которые могут отражать авидное связывание.

Термин «трансферриновый рецептор» или «TfR», используемый в данном документе, относится к белку 1 трансферринового рецептора. Последовательность полипептида трансферринового рецептора 1 человека представлена в SEQ ID NO:150. Также известны последовательности белка 1 трансферринового рецептора от других

видов (например, шимпанзе, номер доступа XP_003310238.1; макака-резус, NP_001244232.1; собака, NP_001003111.1; крупный рогатый скот, NP_001193506.1; мышь, NP_035768.1; крыса, NP_073203.1 и курица, NP_990587.1). Термин «трансферриновый рецептор» также включает аллельные варианты иллюстративных эталонных последовательностей, например, человеческих последовательностей, которые кодируются геном в хромосомном локусе трансферринового белка рецептора 1. Полноразмерный белок трансферриновый рецептор включает короткую N-концевую внутриклеточную область, трансмембранную область и большой внеклеточный домен. Внеклеточный домен характеризуется тремя доменами: протеазоподобным доменом, спиральным доменом и апикальным доменом.

В контексте данного документа термин «полипептид Fc» относится к C-концевой области встречающегося в природе полипептида тяжелой цепи иммуноглобулина, который характеризуется укладкой Ig в виде структурного домена. Полипептид Fc содержит последовательности константной области, включая по меньшей мере домен CH2 и/или домен CH3, и может содержать по меньшей мере часть шарнирной области, но не содержит вариабельную область.

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

Используемый в данном документе термин «FcRn» относится к неонатальному Fc-рецептору. Связывание полипептидов Fc с FcRn снижает клиренс и увеличивает время полужизни полипептида Fc в сыворотке. Белок FcRn человека представляет собой гетеродимер, который состоит из белка размером около 50 кДа, который подобен белку главного комплекса гистосовместимости класса I (МНС), и β 2-микроглобулину размером около 15 кДа.

Используемый в данном документе термин «сайт связывания FcRn» относится к области полипептида Fc, которая связывается с FcRn. В IgG человека сайт связывания FcRn, пронумерованный с использованием индекса EU, включает L251, M252, I253, S254, R255, T256, M428, H433, N434, H435, и Y436. Эти положения соответствуют положениям с 21 по 26, 198 и с 203 по 206 SEQ ID NO:130.

Используемый в данном документе термин «нативный сайт связывания FcRn» относится к области полипептида Fc, которая связывается с FcRn и имеет ту же аминокислотную последовательность, что и область встречающегося в природе полипептида Fc, которая связывается с FcRn.

Используемые в данном документе термины «домен CH3» и «домен CH2» относятся к полипептидам домена константной области иммуноглобулина. В целях этой заявки полипептид домена CH3 относится к сегменту аминокислот приблизительно от положения 341 приблизительно до положения 447, пронумерованных в соответствии со схемой нумерации EU, а полипептид домена CH2 относится к сегменту аминокислот приблизительно от положения 231 приблизительно до положения 340, пронумерованных в соответствии со схемой нумерации EU, и не содержит последовательности шарнирной области. Полипептиды доменов CH2 и CH3 также могут быть пронумерованы в соответствии со схемой нумерации IMGT (ImMunoGeneTics), в которой нумерация доменов CH2 соответствует 1–110, а нумерация доменов CH3 соответствует 1–107, согласно Научной системе нумерации IMGT (веб-сайт IMGT). Домены CH2 и CH3 являются частью области Fc иммуноглобулина. Область Fc относится к сегменту аминокислот приблизительно до позиции 231 приблизительно до положения 447, пронумерованных в соответствии со схемой нумерации EU, но в контексте данного документа может включать по меньшей мере часть шарнирной области антитела. Иллюстративная последовательность шарнирной области представляет собой шарнирную последовательность человеческого IgG1 EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:127).

Термины «дикий тип», «нативный» и «встречающийся в природе», используемые в отношении домена CH3 или CH2, относятся к домену, который имеет последовательность, встречающуюся в природе.

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

Термин «выделенный», используемый со ссылкой на нуклеиновую кислоту или белок, означает, что нуклеиновая кислота или белок, по существу, свободны от других клеточных компонентов, с которыми они связаны в естественном состоянии. Это предпочтительно в гомогенном состоянии. Чистоту и гомогенность обычно определяют с

использованием методов аналитической химии, таких как электрофорез (например, электрофорез в полиакриламидном геле) или хроматография (например, высокоэффективная жидкостная хроматография). В некоторых вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота или белок имеет чистоту по меньшей мере 85%, чистоту по меньшей мере 90%, чистоту по меньшей мере 95% или чистоту по меньшей мере 99%.

Термин «аминокислота» относится к встречающимся в природе и синтетическим аминокислотам, а также аминокислотным аналогам и аминокислотным миметикам, которые функционируют подобно встречающимся в природе аминокислотам. Встречающиеся в природе аминокислоты представляют собой аминокислоты, которые кодируются генетическим кодом, а также те аминокислоты, которые позднее модифицируются, например, гидроксипролин, γ -карбоксиглутамат и O-фосфосерин. Встречающиеся в природе α -аминокислоты включают, без ограничения, аланин (Ala), цистеин (Cys), аспарагиновую кислоту (Asp), глутаминовую кислоту (Glu), фенилаланин (Phe), глицин (Gly), гистидин (His), изолейцин (Ile), аргинин (Arg), лизин (Lys), лейцин (Leu), метионин (Met), аспарагин (Asn), пролин (Pro), глутамин (Gln), серин (Ser), треонин (Thr), валин (Val), триптофан (Trp), тирозин (Tyr) и их комбинации. Стереоизомеры встречающихся в природе α -аминокислот включают, без ограничения, D-аланин (D-Ala), D-цистеин (D-Cys), D-аспарагиновую кислоту (D-Asp), D-глутаминовую кислоту (D-Glu), D-фенилаланин (D-Phe), D-гистидин (D-His), D-изолейцин (D-Ile), D-аргинин (D-Arg), D-лизин (D-Lys), D-лейцин (D-Leu), D-метионин (D-Met), D-аспарагин (D-Asn), D-пролин (D-Pro), D-глутамин (D-Gln), D-серин (D-Ser), D-треонин (D-Thr), D-валин (D-Val), D-триптофан (D-Trp), D-тирозин (D-Tyr) и их комбинации. Аминокислотные аналоги представляют собой соединения, которые обладают такой же базовой химической структурой, что и встречающимся в природе аминокислоты, т. е. α -углерод, который связан с водородом, карбоксильная группа, аминогруппа и R-группа, например, гомосерин, норлейцин, сульфоксид метионина, метионинметилсульфоний. Такие аналоги содержат модифицированные R-группы (например, норлейцин) или модифицированные пептидные остовы, но сохраняют сходную базовую химическую структуру со встречающимися в природе аминокислотами. «Аминокислотные миметики» относятся к химическим соединениям, которые имеют структуру, которая отличается от общей химической структуры аминокислоты, но которые функционируют подобно встречающейся в природе аминокислоте. Аминокислоты могут называться в данном документе либо своими обычно известными трехбуквенными обозначениями, либо однобуквенными обозначениями, рекомендованными Комиссией по биохимической номенклатуре IUPAC-IUB.

Термины «полипептид» и «пептид» взаимозаменяемо используются в данном документе для обозначения полимера из аминокислотных остатков в одной цепи. Эти термины применимы к аминокислотным полимерам, в которых один или более аминокислотных остатков представляют собой искусственный химический миметик соответствующей встречающейся в природе аминокислоты, а также к встречающимся в природе аминокислотным полимерам и не встречающимся в природе аминокислотным полимерам. Аминокислотные полимеры могут включать только L-аминокислоты, только D-аминокислоты или смесь L- и D-аминокислот.

В контексте данного документа термин «белок» относится к полипептиду, или димеру (т. е. из двух), или мультимеру (т. е. из трех или более) одноцепочечных полипептидов. Одноцепочечные полипептиды белка могут быть соединены ковалентной связью, например, дисульфидной связью или посредством нековалентных взаимодействий.

Используемый в данном документе термин «линкер» относится к фрагменту, который связывает (например, ковалентно связывает) два пептида или полипептида (например, между полипептидом Fc и scFv) для соединения или слияния пептидов или полипептидов. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит химическую связь. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит пептид, имеющий длину в один или более аминокислотных остатков. Подходящие линкеры для соединения или слияния пептидов или полипептидов могут быть выбраны на основе свойств линкеров, таких как длина, гидрофобность, гибкость, жесткость или расщепляемость линкера.

Термины «полинуклеотид» и «нуклеиновая кислота» взаимозаменяемо относятся к цепям нуклеотидов любой длины и включают ДНК и РНК. Нуклеотиды могут представлять собой дезоксирибонуклеотиды, рибонуклеотиды, модифицированные нуклеотиды или основания, и/или их аналоги, или любой субстрат, который может быть включен в цепь ДНК- или РНК-полимеразой. Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и их аналоги. Примеры рассматриваемых в данном документе полинуклеотидов включают одноцепочечную и двухцепочечную ДНК, одноцепочечную и двухцепочечную РНК и гибридные молекулы, содержащие смеси одноцепочечной и двухцепочечной ДНК и РНК.

Термины «консервативная замена» и «консервативная мутация» относятся к изменению, которое приводит к замене аминокислоты на другую аминокислоту, которая может быть отнесена к категории обладающих аналогичным свойством. Примеры категорий консервативных аминокислотных групп, определяемых таким образом, могут включать: «заряженную/полярную группу», включая Glu (глутаминовую кислоту или E),

Asp (аспарагиновую кислоту или D), Asn (аспарагин или N), Gln (глутамин или Q), Lys (лизин или K), Arg (аргинин или R) и His (гистидин или H); «ароматическую группу», включая Phe (фенилаланин или F), Tyr (тирозин или Y), Trp (триптофан или W) и (гистидин или H); и «алифатическую группу», включая Gly (глицин или G), Ala (аланин или A), Val (валин или V), Leu (лейцин или L), Ile (изолейцин или I), Met (метионин или M), Ser (серин или S), Thr (треонин или T) и Cys (цистеин или C). Внутри каждой группы также можно выделить подгруппы. Например, группу заряженных или полярных аминокислот можно подразделить на подгруппы, включающие: «положительно заряженную подгруппу», включающую Lys, Arg и His; «отрицательно заряженную подгруппу», включающую Glu и Asp; и «полярную подгруппу», включающую Asn и Gln. В другом примере ароматическую или циклическую группу можно подразделить на подгруппы, включающие: «подгруппу азотного кольца», включающую Pro, His и Trp; и «фенильную подгруппу», включающую Phe и Tyr. В другом дополнительном примере алифатическую группу можно подразделить на подгруппы, например, «алифатическую неполярную подгруппу», включающую Val, Leu, Gly и Ala; и «алифатическую слабополярную подгруппу», включающую Met, Ser, Thr и Cys. Примеры категорий консервативных мутаций включают аминокислотные замены аминокислот в подгруппах, указанных выше, такие как, без ограничения: Lys вместо Arg или наоборот, так, чтобы можно было сохранить положительный заряд; Glu вместо Asp или наоборот, так, чтобы можно было сохранить отрицательный заряд; Ser вместо Thr или наоборот, так, чтобы можно было сохранить свободный -ОН; и Gln вместо Asn или наоборот, так, чтобы можно было сохранить свободный -NH₂. В некоторых вариантах осуществления гидрофобные аминокислоты заменяют на встречающуюся в природе гидрофобную аминокислоту, например, в активном сайте, чтобы сохранить гидрофобность.

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

Для сравнения последовательностей полипептидов, как правило, одна

аминокислотная последовательность действует как эталонная последовательность, с которой сравнивают кандидатную последовательность. Выравнивание можно проводить, используя различные методы, доступные специалисту в данной области техники, например визуальное выравнивание, или используя общедоступное программное обеспечение с использованием известных алгоритмов для достижения максимального выравнивания. Такие программы включают программы BLAST, ALIGN, ALIGN-2 (Genentech, South San Francisco, Calif.) или Megalign (DNASTAR). Специалист в данной области техники может определить параметры, используемые для выравнивания для достижения максимального выравнивания. Для сравнения полипептидных последовательностей в целях данной заявки используют алгоритм BLASTP стандартного BLAST для белков для выравнивания двух белковых последовательностей с параметрами по умолчанию.

Термины «соответствующий», «определенный со ссылкой на» или «пронумерованный со ссылкой на», используемые в контексте идентификации заданного аминокислотного остатка в полипептидной последовательности, относятся к положению остатка указанной эталонной последовательности, когда заданную аминокислотную последовательность максимально выравнивают и сравнивают с эталонной последовательностью. Таким образом, например, аминокислотный остаток в модифицированном полипептиде Fc «соответствует» аминокислоте в SEQ ID NO:130, когда остаток выравнивается с аминокислотой в SEQ ID NO:130 при оптимальном выравнивании с SEQ ID NO:130. Полипептид, который выровнен с эталонной последовательностью, не обязательно должен иметь ту же длину, что и эталонная последовательность.

Термины «субъект», «индивид» и «пациент», взаимозаменяемо используемые в данном документе, относятся к млекопитающему, включая, но не ограничиваясь этим, людей, отличных от человека приматов, грызунов (например, крыс, мышей и морских свинок), кроликов, коров, свиней, лошадей и другие виды млекопитающих. В одном варианте осуществления пациент представляет собой человека.

Термины «лечение», «лечить» и тому подобное используются в данном документе для обозначения достижения желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта. «Осуществления лечения» или «лечение» может относиться к любым признакам успеха в лечении или облегчении нейродегенеративного заболевания (например, болезни Альцгеймера или другого нейродегенеративного заболевания, описанного в данном документе), включая любой объективный или субъективный параметр, такой как уменьшение, ремиссия, улучшение выживаемости пациентов, увеличение времени или

показателя выживаемости, уменьшение симптомов или повышение переносимости болезни пациентом, замедление скорости дегенерации или ухудшения патологического состояния или улучшение физического или психического благополучия пациента. Лечение или облегчение симптомов может основываться на объективных или субъективных параметрах. Эффект лечения можно сравнивать с индивидом или группой индивидов, не проходящих лечение, или с тем же пациентом до лечения или в другое время во время лечения.

Термин «фармацевтически приемлемый эксципиент» относится к неактивному фармацевтическому ингредиенту, который является биологически или фармакологически совместимым для применения людьми или животными, такому как, но не ограничиваясь этим, буфер, носитель или консервант.

Используемый в данном документе термин «терапевтическое количество» или «терапевтически эффективное количество» агента представляет собой количество агента (например, любого из белков, описанных в данном документе), которое лечит заболевание у субъекта.

Термин «вводить» относится к способу доставки агентов, соединений или композиций к необходимому участку биологического действия. Эти способы включают, но не ограничиваются этим, местную доставку, парентеральную доставку, внутривенную доставку, внутрикожную доставку, внутримышечную доставку, интратекальную доставку, доставку в толстую кишку, ректальную доставку или внутрибрюшинную доставку. В одном варианте осуществления белок, описанный в данном документе, вводят внутривенно.

III. БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ БЕЛКИ К HER2

В одном аспекте предложены биспецифические белки, которые обладают способностью специфически связываться как с субдоменом II HER2 человека, так и с субдоменом IV HER2 человека. В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc биспецифического белка представляют собой модифицированный полипептид Fc (например, модифицированный для усиления связывания TfR и/или для усиления гетеродимеризации полипептидов Fc).

Полипептид Fab-Fc/полипептид scFv-Fc

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит полипептиды Fc, слитые с частью Fab и scFv. Схематические изображения такого биспецифического белка показаны на фиг. 1A и 1B. В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab;

(b) второй полипептид Fc, слитый на N-конце с одноцепочечным варибельным фрагментом (scFv), причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) полипептид легкой цепи, который образует пару с Fd-частью, указанной в (a), с образованием Fab,

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека. В некоторых вариантах осуществления Fab в белке связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека. В других вариантах осуществления Fab в белке связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека.

Fab образуется в результате спаривания Fd-части Fab, которая слита с N-концом первого полипептида Fc, с легкой цепью. В некоторых вариантах осуществления Fab, который специфически связывается с субдоменом II HER2 человека, содержит область V_H, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:108. В некоторых вариантах осуществления Fab, который специфически связывается с субдоменом IV HER2 человека, содержит область V_H, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:109.

В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc биспецифического белка слит на N-конце с фрагментом scFv. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc слит на N-конце с фрагментом scFv через первый линкер. В некоторых вариантах осуществления первый линкер имеет длину от около 1 до около 50 аминокислот, например, от около 1 до около 40, от около 1 до около 30, от около 1 до около 25, от около 1 до около 20, от около 1 до около 15, от около 1 до около 10, от около 2 до около 40, от около 2 до около 30, от около 2 до около 20, от около 2 до около 10, от около 5 до около 40, от около 5 до около 30, от около 5 до около 25 или от около 5 до около 20 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления первый линкер имеет длину около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 аминокислот. Различные линкеры подробно описаны далее в данном документе. В некоторых вариантах осуществления первый линкер содержит последовательность GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:118).

В некоторых вариантах осуществления scFv в биспецифическом белке содержит область V_H и область V_L, которые соединены через второй линкер. В некоторых

вариантах осуществления ориентация области V_L и области V_H в scFv представляет собой (N-конец)-область V_L -область V_H -(С-конец), причем С-конец scFv соединен с N-концом полипептида Fc через первый линкер. В других вариантах осуществления ориентация области V_L и области V_H в scFv представляет собой (N-конец)-область V_H -область V_L -(С-конец), причем С-конец scFv соединен с N-концом полипептида Fc через первый линкер.

В некоторых вариантах осуществления область V_L и область V_H scFv соединены через второй линкер. В некоторых вариантах осуществления второй линкер имеет длину от около 10 до около 25 аминокислот, например, от около 10 до около 20, от около 12 до около 25, от около 12 до около 20, от около 14 до около 25, или от около 14 до около 20 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления второй линкер имеет длину около 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, или 25 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления второй линкер включает гибкий линкер. Различные линкеры подробно описаны далее в данном документе. В некоторых вариантах осуществления второй линкер включает любую последовательность из GGS₅GGGSGGGSGGGSGG (SEQ ID NO:116; (GGSG)₅), GGGGS (SEQ ID NO:117; G₄S), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:118; (G₄S)₂), GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:119; (G₄S)₃), GGGSGGGSGGGG (SEQ ID NO:120; (G₄S)₂-G₄), GGGSGGGSGG (SEQ ID NO:121), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:123).

В некоторых вариантах осуществления область V_L и область V_H scFv содержат замены Cys. В некоторых вариантах осуществления замены Cys в области V_L и области V_H могут образовывать дисульфидную связь и способствовать стабилизации структуры scFv. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит цистеин в каждом из положений V_H44 и V_L100 в соответствии с нумерацией переменных доменов по Kabat. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит дисульфидную связь между цистеинами в положениях V_H44 и V_L100 .

Например, область V_L к HER2DII может иметь замену Gln на Cys в положении 100 SEQ ID NO:110. В конкретных вариантах осуществления область V_L к HER2DII, содержащая замену Cys, может иметь последовательность SEQ ID NO:114. В некоторых вариантах осуществления область V_L к HER2DIV может иметь замену Gln на Cys в положении 100 SEQ ID NO:111. В конкретных вариантах осуществления область V_L к HER2DIV, содержащая замену Cys, может иметь последовательность SEQ ID NO:115.

Например, область V_H к HER2DII может иметь замену Gly на Cys в положении 44 SEQ ID NO:108. В конкретных вариантах осуществления область V_H к HER2DII, содержащая замену Cys, может иметь последовательность SEQ ID NO:112. В некоторых вариантах осуществления область V_H к HER2DIV может иметь замену Gly на Cys в

положении 44 SEQ ID NO:109. В конкретных вариантах осуществления область V_H к HER2DIV, содержащая замену Cys, может иметь последовательность SEQ ID NO:113.

В некоторых вариантах осуществления в части (а) биспецифического белка, имеющего структуру «полипептид Fab-Fc/полипептид scFv-Fc», первый полипептид Fc слит на N-конце с Fd-частью Fab через шарнирную область или частичную шарнирную область. В некоторых вариантах осуществления в части (b) биспецифического белка, имеющего структуру «полипептид Fab-Fc/полипептид scFv-Fc», второй полипептид Fc слит на N-конце с scFv через шарнирную область или частичную шарнирную область. Иллюстративная последовательность шарнирной области представляет собой шарнирную последовательность человеческого IgG1 EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:127). Частичная шарнирная область относится к части последовательности SEQ ID NO:127, например, частичной шарнирной области, имеющей последовательность DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:128).

В дополнительных вариантах осуществления в части (b) биспецифического белка, имеющего структуру «полипептид Fab-Fc/полипептид scFv-Fc», шарнирная область (например, SEQ ID NO:127) или частичная шарнирная область (например, SEQ ID NO:128) слита на N-конце второго полипептида Fc. В определенных вариантах осуществления, когда шарнирная область слита на N-конце второго полипептида Fc, шарнирная область может содержать мутацию Cys в Ser в положении 5 относительно последовательности SEQ ID NO:127. Например, шарнирная область, имеющая мутацию Cys в Ser, может иметь последовательность EPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:129).

В биспецифическом белке, имеющем структуру «полипептид Fab-Fc/полипептид scFv-Fc», первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc могут специфически связываться с трансферриновым рецептором (например, TfR-связывающим полипептидом Fc). Различные полипептиды Fc и их модификации подробно описаны далее в данном документе. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и второй полипептид Fc могут содержать модификации, которые способствуют гетеродимеризации. Например, первый полипептид Fc может содержать замену T366W, а второй полипептид Fc может содержать замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. В еще одном примере первый полипептид Fc может содержать замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc может содержать замену T366W в соответствии с нумерацией EU. Кроме того, первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо друг от друга могут содержать модификации, снижающие эффекторную функцию. Например, модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU. В конкретных вариантах

осуществления биспецифического белка, имеющего структуру «полипептид Fab-Fc/полипептид scFv-Fc», первый полипептид Fc (или второй полипептид Fc) представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc, который содержит замену T366W и замены L234A и L235A, согласно нумерации EU, и второй полипептид Fc (или первый полипептид Fc) содержит замены T366S, L368A и Y407V, согласно нумерации EU. Например, первый полипептид Fc (или второй полипептид Fc) может содержать последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137, а второй полипептид Fc (или первый полипептид Fc) может содержать последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133).

В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc и содержит замены L234A и L235A, а второй полипептид Fc не содержит замены L234A или L325A в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc не содержит замены L234A или L325A, а второй полипептид Fc представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc и содержит замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU.

Примеры биспецифических белков «полипептид Fab-Fc/полипептид scFv-Fc»

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом II HER2 человека;
- (b) второй полипептид Fc, слитый на N-конце с одноцепочечным варибельным фрагментом (scFv), который связывается с субдоменом IV HER2 человека, при этом первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
- (c) полипептид легкой цепи, который образует пару с Fd-частью, указанной в (a), с образованием Fab.

В одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:21 или 22, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей

NO:25. Следует отметить, что в обоих этих примерах часть scFv содержит область V_L к HER2DIV, имеющую замену Gln на Cys (SEQ ID NO:115), и область V_H к HER2DIV, имеющую замену Gly на Cys (SEQ ID NO:113). Также в обеих конструкциях шарнирная область на (b) имеет мутацию Cys в Ser в положении 5 (EPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:129)).

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом IV HER2 человека;
- (b) второй полипептид Fc, слитый на N-конце с одноцепочечным варибельным фрагментом (scFv), который связывается с субдоменом II HER2 человека, при этом первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
- (c) полипептид легкой цепи, который образует пару с Fd-частью, указанной в (a), с образованием Fab.

В одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 15, 16, или 17, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:14, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:13, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей

мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9 или 10, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:11 или 12, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического белка, описанного выше, первый полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления белок включает конфигурацию цис-LALA, описанную ниже.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического белка, описанного выше, один или оба полипептида Fc могут иметь удаленный С-концевой лизин (например, остаток Lys в положении 447 полипептида Fc согласно нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления удаление С-концевых лизинов в полипептидах Fc может улучшить стабильность биспецифических белков.

мкАт/Н-концевой или С-концевой scFv на НС

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит полипептиды Fc, которые слиты на каждом N-конце с Fab, который специфически связывается с субдоменом II или IV HER2 человека, и один или оба полипептида Fc слиты на С-конце с scFv, который специфически связывается с субдоменом II или IV HER2 человека. В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит полипептиды Fc, которые слиты на каждом N-конце с Fab, который специфически связывается с субдоменом II или IV HER2 человека, и один или оба Fab слиты на N-конце с scFv, который специфически связывается с субдоменом II или IV HER2 человека. Схематические изображения такого биспецифического белка показаны на фиг. 2A-2D. В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab;
- (b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
- (c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой Fd-частью, указанной в (a) и (b), с образованием Fab,

причем первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc слиты на С-конце с scFv, или

при этом Fd-часть в (a) и/или (b) слита на N-конце с scFv, или

при этом первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слит на C-конце с scFv, а Fd-часть в (a) или (b) слита на N-конце с scFv, и

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека. В некоторых вариантах осуществления Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека. В других вариантах осуществления Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека.

В некоторых вариантах осуществления Fab, который специфически связывается с субдоменом II HER2 человека, содержит область V_H, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:108. В некоторых вариантах осуществления Fab, который специфически связывается с субдоменом IV HER2 человека, содержит область V_H, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:109.

В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc слиты на C-конце с scFv. В конкретных вариантах осуществления первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слиты на C-конце с scFv. В конкретных вариантах осуществления первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слиты на C-конце с scFv. В конкретных вариантах осуществления Fd-часть в (a) и/или (b) слита на N-конце с scFv. В конкретных вариантах осуществления Fd-часть в (a) или (b) слита на N-конце с scFv. В конкретных вариантах осуществления каждая Fd-часть в (a) и (b) слита на N-конце с scFv. В дополнительных вариантах осуществления первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слит на C-конце с scFv, а Fd-часть в (a) или (b) слита на N-конце с scFv.

В некоторых вариантах осуществления, когда первый полипептид Fc и второй полипептид Fc слиты на C-конце с scFv, два scFv могут содержать идентичные последовательности. В некоторых вариантах осуществления, когда Fd-часть в (a) и Fd-часть в (b) слиты на N-конце с scFv, два scFv могут содержать идентичные последовательности. В некоторых вариантах осуществления, когда первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слит на C-конце с scFv, а Fd-часть в (a) или (b) слита на N-конце с scFv, два scFv могут содержать идентичные последовательности.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc слиты на C-конце с scFv через первый линкер. В других вариантах

осуществления Fd-часть в (a) и/или Fd-часть в (b) слиты на N-конце с scFv через первый линкер. В некоторых вариантах осуществления первый линкер имеет длину от около 1 до около 50 аминокислот, например, от около 1 до около 40, от около 1 до около 30, от около 1 до около 25, от около 1 до около 20, от около 1 до около 15, от около 1 до около 10, от около 2 до около 40, от около 2 до около 30, от около 2 до около 20, от около 2 до около 10, от около 5 до около 40, от около 5 до около 30, от около 5 до около 25 или от около 5 до около 20 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления первый линкер имеет длину около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 аминокислот. Различные линкеры подробно описаны далее в данном документе. В некоторых вариантах осуществления первый линкер содержит любую последовательность из GGS₅GGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GGS)₅), GGGGS (SEQ ID NO:117; G₄S), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:118; (G₄S)₂), GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:119; (G₄S)₃), GGGSGGGSGGGG (SEQ ID NO:120; (G₄S)₂-G₄), GGGSGGGSGG (SEQ ID NO:121), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:123).

В некоторых вариантах осуществления scFv в биспецифическом белке содержит область V_H и область V_L, которые соединены через второй линкер. В некоторых вариантах осуществления ориентация области V_L и области V_H в scFv представляет собой (N-конец)-область V_L-область V_H-(С-конец), причем С-конец scFv соединен с N-концом Fd-части в (a) или (b) через первый линкер. В других вариантах осуществления ориентация области V_L и области V_H в scFv представляет собой (N-конец)-область V_H-область V_L-(С-конец), причем С-конец scFv соединен с N-концом Fd-части в (a) или (b) через первый линкер. В некоторых вариантах осуществления ориентация области V_L и области V_H в scFv представляет собой (N-конец)-область V_L-область V_H-(С-конец), причем N-конец scFv соединен с С-концом первого полипептида Fc или второго полипептида Fc через первый линкер. В других вариантах осуществления ориентация области V_L и области V_H в scFv представляет собой (N-конец)-область V_H-область V_L-(С-конец), в которой N-конец scFv соединен с С-концом первого полипептида Fc или второго полипептида Fc через первый линкер.

В некоторых вариантах осуществления второй линкер, соединяющий области V_L и V_H в scFv, имеет длину от около 10 до около 25 аминокислот, например, от около 10 до около 20, от около 12 до около 25, от около 12 до около 20, от около 14 до около 25 или от около 14 до около 20 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления второй линкер имеет длину около 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, или 25 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления второй линкер включает гибкий

линкер. Различные линкеры подробно описаны далее в данном документе. В некоторых вариантах осуществления второй линкер включает любую последовательность из GGSGGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GSG)₅), GGGGS (SEQ ID NO:117; G₄S), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:118; (G₄S)₂), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:119; (G₄S)₃), GGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO:120; (G₄S)₂-G₄), GGGGSGGGGSGG (SEQ ID NO:121), GGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGGGSGGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:123).

В некоторых вариантах осуществления область V_L и область V_H scFv содержат замены Cys. В некоторых вариантах осуществления замены Cys в области V_L и области V_H могут образовывать дисульфидную связь и способствовать стабилизации структуры scFv. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит цистеин в каждом из положений V_H44 и V_L100 в соответствии с нумерацией переменных доменов по Kabat. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит дисульфидную связь между цистеинами в положениях V_H44 и V_L100.

Например, область V_L к HER2DII может иметь замену Gln на Cys в положении 100 SEQ ID NO:110. В конкретных вариантах осуществления область V_L к HER2DII, содержащая замену Cys, может иметь последовательность SEQ ID NO:114. В некоторых вариантах осуществления область V_L к HER2DIV может иметь замену Gln на Cys в положении 100 SEQ ID NO:111. В конкретных вариантах осуществления область V_L к HER2DIV, содержащая замену Cys, может иметь последовательность SEQ ID NO:115.

Например, область V_H к HER2DII может иметь замену Gly на Cys в положении 44 SEQ ID NO:108. В конкретных вариантах осуществления область V_H к HER2DII, содержащая замену Cys, может иметь последовательность SEQ ID NO:112. В некоторых вариантах осуществления область V_H к HER2DIV может иметь замену Gly на Cys в положении 44 SEQ ID NO:109. В конкретных вариантах осуществления область V_H к HER2DIV, содержащая замену Cys, может иметь последовательность SEQ ID NO:113.

В некоторых вариантах осуществления в части (a) биспецифического белка, имеющего структуру «мкАт/N-концевой или C-концевой scFv на HC», первый полипептид Fc слит на N-конце с Fd-частью Fab через шарнирную область или частичную шарнирную область. В некоторых вариантах осуществления в части (b) биспецифического белка, имеющего структуру «мкАт/N-концевой или C-концевой scFv на HC», второй полипептид Fc слит на N-конце с Fd-частью Fab через шарнирную область или частичную шарнирную область. Иллюстративная последовательность шарнирной области представляет собой шарнирную последовательность человеческого IgG1 EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:127). Частичная шарнирная область относится к части последовательности SEQ ID

NO:127, например, частичной шарнирной области, имеющей последовательность DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:128).

В биспецифическом белке, имеющем структуру «мкАт/N-концевой или С-концевой scFv на НС», первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc могут специфически связываться с трансферриновым рецептором (например, TfR-связывающим полипептидом Fc). Различные полипептиды Fc и их модификации подробно описаны далее в данном документе. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и второй полипептид Fc могут содержать модификации, которые способствуют гетеродимеризации. Например, первый полипептид Fc может содержать замену T366W, а второй полипептид Fc может содержать замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. В еще одном примере первый полипептид Fc может содержать замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc может содержать замену T366W в соответствии с нумерацией EU. Кроме того, первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо друг от друга могут содержать модификации, снижающие эффекторную функцию. Например, модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU. В конкретных вариантах осуществления биспецифического белка, имеющего структуру «мкАт/N-концевой или С-концевой scFv на НС», первый полипептид Fc (или второй полипептид Fc) представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc, который содержит замену T366W, и L234A и замены L235A в соответствии с нумерацией EU, и второй полипептид Fc (или первый полипептид Fc) содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. Например, первый полипептид Fc (или второй полипептид Fc) может содержать последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137, а второй полипептид Fc (или первый полипептид Fc) может содержать последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133).

В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc и содержит замены L234A и L235A, а второй полипептид Fc не содержит замены L234A или L235A в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc не содержит замены L234A или L235A, а второй полипептид Fc представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc и содержит замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU.

Примеры биспецифических белков «мкАт/N-концевой или С-концевой scFv на

НС»

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом II HER2 человека;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab,

причем первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слиты на C-конце с scFv, который связывается с субдоменом IV HER2 человека.

В одном примере биспецифического белка (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 27 или 28, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4 или 5, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:29, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:30, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%)

идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 31 или 32, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом IV HER2 человека;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab,

причем первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слиты на C-конце с scFv, который связывается с субдоменом II HER2 человека.

В одном примере биспецифического белка (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:33 или 34, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9 или 10, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:35, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:36, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с

последовательностью SEQ ID NO:7, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 37, 38 или 39, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(а) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом II HER2 человека;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(с) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (а) и (b), с образованием Fab,

причем каждый из первого полипептида Fc и второго полипептида Fc слит на С-конце с scFv, который связывается с субдоменом IV HER2 человека.

В одном примере биспецифического белка (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:27 или 28, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 31 или 32, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В еще одном примере (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:29, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:30, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%)

идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом IV HER2 человека;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab,

причем каждый из первого полипептида Fc и второго полипептида Fc слит на C-конце с scFv, который связывается с субдоменом II HER2 человека.

В одном примере биспецифического белка (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:33 или 34, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 37, 38 или 39, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:35, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:36, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом II HER2 человека;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab,

причем Fd-часть в (a) или (b) слита на N-конце с scFv, который связывается с субдоменом IV HER2 человека.

В одном примере биспецифического белка (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:40, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4 или 5, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В еще одном примере (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:41, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В еще одном примере (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:42, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В еще одном примере (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 43 или 44, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (а) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом IV HER2 человека;
- (b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем

первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(с) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (а) и (b), с образованием Fab,

причем Fd-часть в (а) или (b) слита на N-конце с scFv, который связывается с субдоменом II HER2 человека.

В одном примере биспецифического белка (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 45 или 46, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9 или 10, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:47, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:48, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 49 или 50, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%,

99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом II HER2 человека;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab,

причем каждая Fd-часть в (a) и (b) слита на N-конце с scFv, который связывается с субдоменом IV HER2 человека.

В одном примере биспецифического белка (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:40, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:43 или 44, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В другом примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:41, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:42, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом IV HER2 человека;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab,

причем каждая Fd-часть в (a) и (b) слита на N-конце с scFv, который связывается с субдоменом II HER2 человека.

В одном примере биспецифического белка (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:45, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:49 или 50, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:47, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:48, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (а) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом II HER2 человека;
- (b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
- (с) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (а) и (b), с образованием Fab,

причем первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слит на C-конце с scFv, который связывается с субдоменом IV HER2 человека, а Fd-часть в (а) или (b) слита на N-конце с scFv.

В одном примере биспецифического белка (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:40, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:31 или 32, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В другом примере (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%,

93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:41, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:30, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:42, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:29, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 43 или 44, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 27 или 28, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом IV HER2 человека;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab,

причем первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слит на C-конце с scFv, который связывается с субдоменом II HER2 человека, а Fd-часть в (a) или (b) слита на N-конце с scFv.

В одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:45, (b) содержит последовательность, имеющую по

меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 37, 38 или 39, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:47, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:36, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:48, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:35, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 49 или 50, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 33 или 34, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического белка, описанного выше, первый полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления белок включает конфигурацию цис-LALA, описанную ниже.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического белка, описанного выше, один или оба полипептида Fc могут иметь удаленный C-концевой лизин (например,

остаток Lys в положении 447 полипептида Fc согласно нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления удаление С-концевых лизинов в полипептидах Fc может улучшить стабильность биспецифических белков.

мкАт/Н-концевой или С-концевой scFv на LC

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит легкие цепи, слитые на N-конце и/или С-конце с scFv, который специфически связывается с субдоменом II или IV HER2 человека. Схематические изображения такого биспецифического белка показаны на фиг. 3А-3D. В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab;
- (b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
- (c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой Fd-частью, указанной в (a) и (b), с образованием Fab;

причем один или оба полипептида легкой цепи слиты на N-конце с scFv, или при этом один или оба полипептида легкой цепи слиты на С-конце с scFv, или при этом первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv, а второй полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv, и

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека.

В некоторых вариантах осуществления Fab, который специфически связывается с субдоменом II HER2 человека, содержит область V_H, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:108. В некоторых вариантах осуществления Fab, который специфически связывается с субдоменом IV HER2 человека, содержит область V_H, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:109.

В определенных вариантах осуществления один или оба полипептида легкой цепи слиты на N-конце с scFv. В конкретных вариантах осуществления один из полипептидов легкой цепи слит на N-конце с scFv. В конкретных вариантах осуществления каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с scFv. В конкретных вариантах осуществления один или оба полипептида легкой цепи слиты на С-конце с scFv. В конкретных вариантах осуществления один из полипептидов легкой цепи слит на С-конце с scFv. В конкретных вариантах осуществления каждый из двух полипептидов легкой

цепи слит на С-конце с scFv. В дополнительных вариантах осуществления первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv, а второй полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv.

В некоторых вариантах осуществления, когда каждый из обоих полипептидов легкой цепи слит на С-конце с scFv, два scFv могут содержать идентичные последовательности. В некоторых вариантах осуществления, когда оба полипептида легкой цепи слиты на N-конце с scFv, два scFv могут содержать идентичные последовательности.

В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида легкой цепи слиты с scFv через первый линкер. В некоторых вариантах осуществления первый линкер имеет длину от около 1 до около 50 аминокислот, например, от около 1 до около 40, от около 1 до около 30, от около 1 до около 25, от около 1 до около 20, от около 1 до около 15, от около 1 до около 10, от около 2 до около 40, от около 2 до около 30, от около 2 до около 20, от около 2 до около 10, от около 5 до около 40, от около 5 до около 30, от около 5 до около 25 или от около 5 до около 20 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления первый линкер имеет длину около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 аминокислот. Различные линкеры подробно описаны далее в данном документе. В некоторых вариантах осуществления первый линкер содержит любую последовательность из GGSGGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GGSG)₅), GGGGS (SEQ ID NO:117; G₄S), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:118; (G₄S)₂), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:119; (G₄S)₃), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:120; (G₄S)₂-G₄), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:121), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGSGGGGS (SEQ ID NO:123).

В некоторых вариантах осуществления scFv в биспецифическом белке содержит область V_H и область V_L, которые соединены через второй линкер. В некоторых вариантах осуществления ориентация области V_L и области V_H в scFv представляет собой (N-конец)-область V_L-область V_H-(С-конец), причем С-конец scFv соединен с N-концом полипептидов легкой цепи через первый линкер. В других вариантах осуществления ориентация области V_L и области V_H в scFv представляет собой (N-конец)-область V_H-область V_L-(С-конец), причем С-конец scFv соединен с N-концом полипептидов легкой цепи через первый линкер. В некоторых вариантах осуществления ориентация области V_L и области V_H в scFv представляет собой (N-конец)-область V_L-область V_H-(С-конец), причем N-конец scFv соединен с С-концом полипептидов легкой цепи через первый линкер. В других вариантах осуществления ориентация области V_L и области V_H в scFv

представляет собой (N-конец)-область V_H-область V_L-(C-конец), причем N-конец scFv соединен с C-концом полипептидов легкой цепи через первый линкер.

В некоторых вариантах осуществления второй линкер, соединяющий области V_L и V_H в scFv, имеет длину от около 10 до около 25 аминокислот, например, от около 10 до около 20, от около 12 до около 25, от около 12 до около 20, от около 14 до около 25 или от около 14 до около 20 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления второй линкер имеет длину около 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, или 25 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления второй линкер включает гибкий линкер. Различные линкеры подробно описаны далее в данном документе. В некоторых вариантах осуществления второй линкер включает любую последовательность из GGS₅GGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GSG)₅), GGGGS (SEQ ID NO:117; G₄S), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:118; (G₄S)₂), GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:119; (G₄S)₃), GGGSGGGSGGGG (SEQ ID NO:120; (G₄S)₂-G₄), GGGSGGGSGG (SEQ ID NO:121), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:123).

В некоторых вариантах осуществления область V_L и область V_H scFv содержат замены Cys. В некоторых вариантах осуществления замены Cys в области V_L и области V_H могут образовывать дисульфидную связь и способствовать стабилизации структуры scFv. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит цистеин в каждом из положений V_H44 и V_L100 в соответствии с нумерацией переменных доменов по Kabat. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит дисульфидную связь между цистеинами в положениях V_H44 и V_L100.

Например, область V_L к HER2DII может иметь замену Gln на Cys в положении 100 SEQ ID NO:110. В конкретных вариантах осуществления область V_L к HER2DII, содержащая замену Cys, может иметь последовательность SEQ ID NO:114. В некоторых вариантах осуществления область V_L к HER2DIV может иметь замену Gln на Cys в положении 100 SEQ ID NO:111. В конкретных вариантах осуществления область V_L к HER2DIV, содержащая замену Cys, может иметь последовательность SEQ ID NO:115.

Например, область V_H к HER2DII может иметь замену Gly на Cys в положении 44 SEQ ID NO:108. В конкретных вариантах осуществления область V_H к HER2DII, содержащая замену Cys, может иметь последовательность SEQ ID NO:112. В некоторых вариантах осуществления область V_H к HER2DIV может иметь замену Gly на Cys в положении 44 SEQ ID NO:109. В конкретных вариантах осуществления область V_H к HER2DIV, содержащая замену Cys, может иметь последовательность SEQ ID NO:113.

В некоторых вариантах осуществления в части (а) биспецифического белка,

имеющего структуру «мкАт/N-концевой или С-концевой scFv на LC», первый полипептид Fc слит на N-конце с Fd-частью Fab через шарнирную область или частичную шарнирную область. В некоторых вариантах осуществления в части (b) биспецифического белка, имеющего структуру «мкАт/N-концевой или С-концевой scFv на LC», второй полипептид Fc слит на N-конце с Fd-частью Fab через шарнирную область или частичную шарнирную область. Иллюстративная последовательность шарнирной области представляет собой шарнирную последовательность человеческого IgG1 EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:127). Частичная шарнирная область относится к части последовательности SEQ ID NO:127, например, частичной шарнирной области, имеющей последовательность DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:128).

В биспецифическом белке, имеющем структуру «мкАт/N-концевой или С-концевой scFv на LC», первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc могут специфически связываться с трансферриновым рецептором (например, TfR-связывающим полипептидом Fc). Различные полипептиды Fc и их модификации подробно описаны далее в данном документе. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и второй полипептид Fc могут содержать модификации, которые способствуют гетеродимеризации. Например, первый полипептид Fc может содержать замену T366W, а второй полипептид Fc может содержать замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. В еще одном примере первый полипептид Fc может содержать замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc может содержать замену T366W в соответствии с нумерацией EU. Кроме того, первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо друг от друга могут содержать модификации, снижающие эффекторную функцию. Например, модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU. В конкретных вариантах осуществления биспецифического белка, имеющего структуру «мкАт/N-концевой или С-концевой scFv на HC», первый полипептид Fc (или второй полипептид Fc) представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc, который содержит замену T366W, и L234A и замены L235A в соответствии с нумерацией EU, и второй полипептид Fc (или первый полипептид Fc) содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. Например, первый полипептид Fc (или второй полипептид Fc) может содержать последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137, а второй полипептид Fc (или первый полипептид Fc) может содержать последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с

последовательностью SEQ ID NO:133).

В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc и содержит замены L234A и L235A, а второй полипептид Fc не содержит замены L234A или L325A в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc не содержит замены L234A или L325A, а второй полипептид Fc представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc и содержит замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU.

Примеры биспецифических белков «мкАт/N-концевой или C-концевой scFv на LC»

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом II HER2 человека;
- (b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
- (c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab;

причем один из полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv, который связывается с субдоменом IV HER2 человека.

В одном примере биспецифического белка (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4 или 5, первый полипептид легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:52 и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, первый полипептид легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID

NO:52, и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом IV HER2 человека;
- (b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
- (c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab;

причем один из полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv, который связывается с субдоменом II HER2 человека.

В одном примере биспецифического белка (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9 или 10, первый полипептид легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:53 или 54, и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, первый полипептид легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 53 или 54, и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая

связывается с субдоменом II HER2 человека;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab;

причем каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv, который связывается с субдоменом IV HER2 человека.

В одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 4 или 5, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:52. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:52.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом IV HER2 человека;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab;

причем каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv, который связывается с субдоменом II HER2 человека.

В одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности

с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 9 или 10, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 53 или 54. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:53 или 54.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом II HER2 человека;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab;

причем один из полипептидов легкой цепи слит на N-конце с scFv, который связывается с субдоменом IV HER2 человека.

В одном примере биспецифического белка (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4 или 5, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55 и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%,

95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55, и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом IV HER2 человека;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab;

причем один из полипептидов легкой цепи слит на N-конце с scFv, который связывается с субдоменом II HER2 человека.

В одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9 или 10, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:56 или 57, и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%)

идентичность с последовательностью SEQ ID NO: 56 или 57, и второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом II HER2 человека;
 - (b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
 - (c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab;
- причем каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с scFv, который связывается с субдоменом IV HER2 человека.

В одном примере биспецифического белка (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 4 или 5, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом IV HER2 человека;
- (b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
- (c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из

Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab;

причем каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с scFv, который связывается с субдоменом II HER2 человека.

В одном примере биспецифического белка (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 9 или 10, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 56 или 57. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:56 или 57. .

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом II HER2 человека;
- (b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
- (c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab;

причем первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv, который связывается с субдоменом IV HER2 человека, а второй полипептид легкой цепи слит на C-конце с scFv.

В одном примере биспецифического белка (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4 или 5, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит

последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55, и второй полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:52. В еще одном примере (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55, и второй полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:52.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (а) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом IV HER2 человека;
- (b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
- (с) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (а) и (b), с образованием Fab;

причем первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv, который связывается с субдоменом II HER2 человека, а второй полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv.

В одном примере биспецифического белка (а) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 9 или 10, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 56 или 57, и второй полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит

последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:53 или 54 и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 56 или 57, и второй полипептид легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:53 или 54 и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического белка, описанного выше, первый полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления белок включает конфигурацию цис-LALA, описанную ниже.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического белка, описанного выше, один или оба полипептида Fc могут иметь удаленный C-концевой лизин (например, остаток Lys в положении 447 полипептида Fc согласно нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления удаление C-концевых лизинов в полипептидах Fc может улучшить стабильность биспецифических белков.

мкАт/N-концевая V_H V_L на HC и LC

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит область V_H (или область V_L), слитую с N-концом каждой из двух тяжелых цепей, и область V_L (или область V_H), слитую с N-концом каждой из двух легких цепей. Схематическое изображение такого биспецифического белка показано на фиг. 4. В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой Fd-частью, указанной в (a) и (b), с образованием Fab;

причем каждая из Fd-частей в (a) и (b) слита на N-конце с областью V_H или областью V_L фрагмента Fv, и

при этом каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с другой областью V_H или областью V_L фрагмента Fv, и

при этом область V_H и область V_L вместе образуют фрагмент Fv, и

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом II HER2 человека.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического белка каждая из Fd-частей в (a) и (b) слита на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с областью V_L фрагмента Fv. В других вариантах осуществления каждая из Fd-частей в (a) и (b) слита на N-конце с областью V_L фрагмента Fv, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с областью V_H фрагмента Fv.

В некоторых вариантах осуществления Fab, который специфически связывается с субдоменом II HER2 человека, содержит область V_H, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:108. В некоторых вариантах осуществления Fab, который специфически связывается с субдоменом IV HER2 человека, содержит область V_H, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:109.

В некоторых вариантах осуществления первый линкер соединяет область V_H или область V_L с N-концом каждой из Fd-частей в (a) и (b). В некоторых вариантах осуществления второй линкер соединяет область V_H или область V_L с N-концом каждого из двух полипептидов легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления первый линкер или второй линкер имеет длину от около 1 до около 50 аминокислот, например, от около 1 до около 40, от около 1 до около 30, от около 1 до около 25, от около 1 до около 20, от около 1 до около 15, от около 1 до около 10, от около 2 до около 40, от около 2 до около 30, от около 2 до около 20, от около 2 до около 10, от около 5 до около 40, от около 5 до около 30, от около 5 до около 25 или от около 5 до около 20 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления первый линкер имеет длину около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8,

9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 аминокислот. Различные линкеры подробно описаны далее в данном документе. В определенных вариантах осуществления первый линкер содержит последовательность ASTKGPSVF (SEQ ID NO:125). В определенных вариантах осуществления второй линкер содержит последовательность RTVAAPSVFI (SEQ ID NO:126).

В некоторых вариантах осуществления в части (а) биспецифического белка, имеющего структуру «мкАт/N-концевой V_H V_L на HC и LC», первый полипептид Fc слит на N-конце с Fd-частью Fab через шарнирную область или частичную шарнирную область. В некоторых вариантах осуществления в части (b) биспецифического белка, имеющего структуру «мкАт/N-концевой V_H V_L на HC и LC», второй полипептид Fc слит на N-конце с Fd-частью Fab через шарнирную область или частичную шарнирную область. Иллюстративная последовательность шарнирной области представляет собой шарнирную последовательность человеческого IgG1 EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:127). Частичная шарнирная область относится к части последовательности SEQ ID NO:127, например, частичной шарнирной области, имеющей последовательность DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:128).

В биспецифическом белке, имеющем структуру «мкАт/N-концевой V_H V_L на HC и LC», первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc могут специфически связываться с трансферриновым рецептором (например, TfR-связывающим полипептидом Fc). Различные полипептиды Fc и их модификации подробно описаны далее в данном документе. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и второй полипептид Fc могут содержать модификации, которые способствуют гетеродимеризации. Например, первый полипептид Fc может содержать замену T366W, а второй полипептид Fc может содержать замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. В еще одном примере первый полипептид Fc может содержать замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc может содержать замену T366W в соответствии с нумерацией EU. Кроме того, первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо друг от друга могут содержать модификации, снижающие эффекторную функцию. Например, модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU. В конкретных вариантах осуществления биспецифического белка, имеющего структуру «мкАт/N-концевой V_H V_L на HC и LC», первый полипептид Fc (или второй полипептид Fc) представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc, который содержит замену T366W, и замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU, и второй полипептид Fc (или первый полипептид Fc) содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. Например,

первый полипептид Fc (или второй полипептид Fc) может содержать последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137, а второй полипептид Fc (или первый полипептид Fc) может содержать последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133).

В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc и содержит замены L234A и L235A, а второй полипептид Fc не содержит замены L234A или L235A в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc не содержит замены L234A или L235A, а второй полипептид Fc представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc и содержит замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU.

Иллюстративные биспецифические белки «мкАт/N-концевые V_H V_L на HC и LC»

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом II HER2 человека;
- (b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
- (c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (a) и (b), с образованием Fab;

причем каждая из Fd-частей в (a) и (b) слита на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, который связывается с субдоменом IV HER2 человека, и

при этом каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с другой областью V_L фрагмента Fv, и

при этом область V_H и область V_L вместе образуют фрагмент Fv.

В одном примере биспецифический белок содержит первый полипептид, содержащий (a), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:58, второй полипептид, содержащий (b), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 61 или 62, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_L фрагмента Fv, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%,

99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:78. В еще одном примере биспецифический белок содержит первый полипептид, содержащий (а) слитый на N-конце с областью V_H фрагмента F_v, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:59, второй полипептид, содержащий (b) слитый на N-конце с областью V_H фрагмента F_v, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:60, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_L фрагмента F_v, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:78.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(а) первый полипептид F_c, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, которая связывается с субдоменом IV HER2 человека;

(b) второй полипептид F_c, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды F_c образуют димер F_c; и

(с) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из Fd-частей, указанных в (а) и (b), с образованием Fab;

причем каждая из Fd-частей в (а) и (b) слита на N-конце с областью V_H фрагмента F_v, который связывается с субдоменом II HER2 человека, и

при этом каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с другой областью V_L фрагмента F_v, и

при этом область V_H и область V_L вместе образуют фрагмент F_v.

В одном примере биспецифический белок содержит первый полипептид, содержащий (а), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента F_v, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:63, второй полипептид, содержащий (b), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента F_v, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 66 или 67, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_L фрагмента F_v, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:79. В еще одном

примере первый полипептид, содержащий (а) слитый на N-конце с областью V_H фрагмента F_v, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:64, второй полипептид, содержащий (b), слитый на N-конце с областью V_H фрагмента F_v, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:65, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_L фрагмента F_v, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:79.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(а) первый полипептид F_c, слитый на N-конце с F_d-частью Fab, которая связывается с субдоменом II HER2 человека;

(b) второй полипептид F_c, который слит на N-конце с F_d-частью Fab, причем первый и второй полипептиды F_c образуют димер F_c; и

(с) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из F_d-частей, указанных в (а) и (b), с образованием Fab;

причем каждая из F_d-частей в (а) и (b) слита на N-конце с областью V_L фрагмента F_v, который связывается с субдоменом IV HER2 человека, и

при этом каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с другой областью V_H фрагмента F_v, и

при этом область V_H и область V_L вместе образуют фрагмент F_v.

В одном примере биспецифический белок содержит первый полипептид, содержащий (а), слитый на N-конце с областью V_L фрагмента F_v, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:68, второй полипептид, содержащий (b), слитый на N-конце с областью V_L фрагмента F_v, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 71 или 72, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_H фрагмента F_v, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:80. В еще одном примере биспецифический белок содержит первый полипептид, содержащий (а) слитый

на N-конце с областью V_L фрагмента F_v , и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:69, второй полипептид, содержащий (b) слитый на N-конце с областью V_L фрагмента F_v , и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:70, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_H фрагмента F_v , и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:80.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

- (a) первый полипептид F_c , слитый на N-конце с F_d -частью F_{ab} , которая связывается с субдоменом IV HER2 человека;
- (b) второй полипептид F_c , который слит на N-конце с F_d -частью F_{ab} , причем первый и второй полипептиды F_c образуют димер F_c ; и
- (c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой из F_d -частей, указанных в (a) и (b), с образованием F_{ab} ;

причем каждая из F_d -частей в (a) и (b) слита на N-конце с областью V_L фрагмента F_v , который связывается с субдоменом II HER2 человека, и

при этом каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с другой областью V_H фрагмента F_v , и

при этом область V_H и область V_L вместе образуют фрагмент F_v .

В одном примере биспецифический белок содержит первый полипептид, содержащий (a), слитый на N-конце с областью V_L фрагмента F_v , и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:73, второй полипептид, содержащий (b), слитый на N-конце с областью V_L фрагмента F_v , и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 76 или 77, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_H фрагмента F_v , и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:81. В еще одном примере биспецифический белок содержит первый полипептид, содержащий (a) слитый на N-конце с областью V_L фрагмента F_v , и последовательность, имеющую по меньшей

мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:74, второй полипептид, содержащий (b) слитый на N-конце с областью V_L фрагмента Fv, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:75, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и каждый содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:81.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического белка, описанного выше, первый полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления белок включает конфигурацию цис-LALA, описанную ниже.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического белка, описанного выше, один или оба полипептида Fc могут иметь удаленный С-концевой лизин (например, остаток Lys в положении 447 полипептида Fc согласно нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления удаление С-концевых лизинов в полипептидах Fc может улучшить стабильность биспецифических белков.

мкАТ/С-концевой V_H V_L на НС

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит область V_H (или область V_L), слитую с С-концом одного из двух полипептидов Fc, и область V_L (или область V_H), слитую с С-концом другого из двух полипептидов Fc. Схематическое изображение такого биспецифического белка показано на фиг. 5. В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(a) первый полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab и слит на С-конце с областью V_H или областью V_L фрагмента Fv;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab и слит на С-конце с другой областью V_H или областью V_L, указанными в (a),

причем область V_H и область V_L вместе образуют фрагмент Fv, и при этом первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой Fd-частью, указанной в (a) и (b), с образованием Fab;

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом

IV HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом II HER2 человека.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического белка первый полипептид Fc слит с областью V_H фрагмента Fv, а второй полипептид Fc слит с областью V_L фрагмента Fv. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc слит с областью V_L фрагмента Fv, а второй полипептид Fc слит с областью V_H фрагмента Fv.

В некоторых вариантах осуществления Fab, который специфически связывается с субдоменом II HER2 человека, содержит область V_H, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:108. В некоторых вариантах осуществления Fab, который специфически связывается с субдоменом IV HER2 человека, содержит область V_H, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:109.

В некоторых вариантах осуществления первый линкер соединяет область V_H или область V_L с С-концом полипептида Fc. В некоторых вариантах осуществления первый линкер или второй линкер имеет длину от около 1 до около 50 аминокислот, например, от около 1 до около 40, от около 1 до около 30, от около 1 до около 25, от около 1 до около 20, от около 1 до около 15, от около 1 до около 10, от около 2 до около 40, от около 2 до около 30, от около 2 до около 20, от около 2 до около 10, от около 5 до около 40, от около 5 до около 30, от около 5 до около 25 или от около 5 до около 20 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления первый линкер имеет длину около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 аминокислот. Различные линкеры подробно описаны далее в данном документе. В некоторых вариантах осуществления первый линкер содержит любую последовательность из GGS₅GGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GGSG)₅), GGGGS (SEQ ID NO:117; G₄S), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:118; (G₄S)₂), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:119; (G₄S)₃), GGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO:120; (G₄S)₂-G₄), GGGGSGGGGSGG (SEQ ID NO:121), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:123).

В некоторых вариантах осуществления в части (а) биспецифического белка, имеющего структуру «мкАт/С-концевой V_H V_L на НС», первый полипептид Fc слит на N-конце с Fd-частью Fab через шарнирную область или частичную шарнирную область. В некоторых вариантах осуществления в части (b) биспецифического белка, имеющего структуру «мкАт/С-концевой V_H V_L на НС», второй полипептид Fc слит на N-конце с Fd-частью Fab через шарнирную область или частичную шарнирную область. Иллюстративная последовательность шарнирной области представляет собой шарнирную

последовательность человеческого IgG1 EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:127). Частичная шарнирная область относится к части последовательности SEQ ID NO:127, например, частичной шарнирной области, имеющей последовательность DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:128).

В биспецифическом белке, имеющем структуру «мкАт/С-концевой V_H V_L на НС», первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc могут специфически связываться с трансферриновым рецептором (например, TfR-связывающим полипептидом Fc). Различные полипептиды Fc и их модификации подробно описаны далее в данном документе. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и второй полипептид Fc могут содержать модификации, которые способствуют гетеродимеризации. Например, первый полипептид Fc может содержать замену T366W, а второй полипептид Fc может содержать замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. В еще одном примере первый полипептид Fc может содержать замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc может содержать замену T366W в соответствии с нумерацией EU. Кроме того, первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо друг от друга могут содержать модификации, снижающие эффекторную функцию. Например, модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU. В конкретных вариантах осуществления биспецифического белка, имеющего структуру «мкАт/Н-концевой V_H V_L на НС», первый полипептид Fc (или второй полипептид Fc) представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc, который содержит замену T366W, и замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU, и второй полипептид Fc (или первый полипептид Fc) содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. Например, первый полипептид Fc (или второй полипептид Fc) может содержать последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137, а второй полипептид Fc (или первый полипептид Fc) может содержать последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133).

В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc и содержит замены L234A и L235A, а второй полипептид Fc не содержит замены L234A или L235A в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc не содержит замены L234A или L235A, а второй полипептид Fc представляет собой TfR-связывающий полипептид Fc и содержит замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU.

Примеры биспецифических белков «мкАт/С-концевой V_H V_L на НС»

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, который связывается с субдоменом II HER2 человека, и слитый на C-конце с областью V_H фрагмента Fv, который связывается с субдоменом IV HER2 человека;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab и слит на C-конце с областью V_L фрагмента Fv.

В одном примере биспецифического белка (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:82 или 83, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 99, 100, или 101, и каждая из двух легких цепей в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В другом примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:84, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:98, и каждая из двух легких цепей в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В другом примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:85, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:97, и каждая из двух легких цепей в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 86, 87 или 88, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 95 или 96, и каждая из двух легких цепей в (c) содержит последовательность, имеющую

по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок содержит:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab, который связывается с субдоменом IV HER2 человека, и слитый на C-конце с областью V_H фрагмента Fv, который связывается с субдоменом II HER2 человека;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab и слит на C-конце с областью V_L фрагмента Fv.

В одном примере биспецифического белка (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:89 или 90, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 105, 106, или 107, и каждая из двух легких цепей в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В другом примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:91, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:104, и каждая из двух легких цепей в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В другом примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:92, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:103, и каждая из двух легких цепей в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26. В еще одном примере (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 93 или 94, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID

NO:102, и каждая из двух легких цепей в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического белка, описанного выше, первый полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления белок включает конфигурацию цис-LALA, описанную ниже.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического белка, описанного выше, один или оба полипептида Fc могут иметь удаленный С-концевой лизин (например, остаток Lys в положении 447 полипептида Fc согласно нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления удаление С-концевых лизинов в полипептидах Fc может улучшить стабильность биспецифических белков.

IV. ПОЛИПЕПТИДЫ FC И ИХ МОДИФИКАЦИИ

В некоторых аспектах любой из биспецифических белков к HER2, описанных в данном документе, содержит димер полипептида Fc, в котором один или оба полипептида Fc в димере содержат аминокислотные модификации по сравнению с полипептидом Fc дикого типа. В некоторых вариантах осуществления модификации аминокислот в полипептиде Fc (например, модифицированном полипептиде Fc) могут приводить к связыванию димера полипептида Fc с рецептором ГЭБ (например, TfR), способствовать гетеродимеризации двух полипептидов Fc в димере, модулировать эффекторную функцию, увеличивать период полужизни в сыворотке, влиять на гликозилирование и/или снижать иммуногенность у человека. В некоторых вариантах осуществления полипептиды Fc, присутствующие в биспецифическом белке, независимо имеют идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере около 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% с соответствующим полипептидом Fc дикого типа (например, полипептидом Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека). Примеры и описания модифицированных полипептидов Fc (например, TfR-связывающих полипептидов Fc) можно найти, например, в международной патентной публикации № WO 2018/152326, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки.

Модификации полипептида Fc для связывания рецептора ГЭБ

В данном документе представлены биспецифические белки к HER2, которые способны проникать через ГЭБ. Такой белок содержит модифицированный полипептид Fc, который связывается с рецептором ГЭБ. Рецепторы ГЭБ экспрессируются на эндотелии ГЭБ, а также в других типах клеток и тканей. В некоторых вариантах

осуществления рецептор ГЭБ представляет собой TfR. Модифицированный полипептид Fc, который связывается с TfR, также упоминается как имеющий сайт связывания TfR.

Аминокислотные остатки, обозначенные в различных модификациях Fc, включая те, которые введены в модифицированный полипептид Fc, который связывается с рецептором ГЭБ, например, TfR, пронумерованы в данном документе с использованием нумерации по индексу EU. Любой полипептид Fc, например, полипептид Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, может иметь модификации, например замены аминокислот в одном или более положениях, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления домен, который модифицирован для обеспечения активности связывания с рецептором ГЭБ (например, TfR), представляет собой домен CH3 Ig человека, такой как домен CH3 IgG1. Домен CH3 может относиться к любому подтипу IgG, то есть IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В контексте антител IgG1 домен CH3 относится к сегменту аминокислот от положения около 341 до положения около 447, пронумерованному в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, который специфически связывается с TfR, связывается с апикальным доменом TfR и может связываться с TfR, не блокируя или иным образом не ингибируя связывание трансферрина с TfR. В некоторых вариантах осуществления связывание трансферрина с TfR существенно не ингибируется. В некоторых вариантах осуществления связывание трансферрина с TfR ингибируется менее чем на около 50% (например, менее чем на около 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, или 5%).

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), присутствующий в биспецифическом белке, описанном в данном документе, содержит одну или более, по меньшей мере одну, две или три замены; и в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в аминокислотных положениях, включающих 266, 267, 268, 269, 270, 271, 295, 297, 298 и 299, в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), присутствующий в биспецифическом белке, описанном в данном документе, содержит по меньшей мере одну, две или три замены; и в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять замен в аминокислотных положениях, включающих 274, 276, 283, 285, 286, 287, 288, 289 и 290, в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), присутствующий в биспецифическом белке, описанном в данном документе, содержит по меньшей мере одну, две или три замены; и в

некоторых вариантах осуществления по меньшей мере четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в аминокислотных положениях, включающих 268, 269, 270, 271, 272, 292, 293, 294, 296 и 300, в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), присутствующий в биспецифическом белке, описанном в данном документе, содержит по меньшей мере одну, две или три замены; и в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять замен в аминокислотных положениях, включающих 272, 274, 276, 322, 324, 326, 329, 330 и 331, в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), присутствующий в биспецифическом белке, описанном в данном документе, содержит по меньшей мере одну, две или три замены; и в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере четыре, пять, шесть или семь замен в аминокислотных положениях, включающих 345, 346, 347, 349, 437, 438, 439 и 440, в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), присутствующий в биспецифическом белке, описанном в данном документе, содержит по меньшей мере одну, две или три замены; и в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять замен в аминокислотных положениях 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421 в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), содержит по меньшей мере одно положение, имеющее замену относительно SEQ ID NO:130, как указано ниже: Leu, Tyr, Met или Val в положении 384; Leu, Thr, His или Pro в положении 386; Val, Pro или кислая аминокислота в положении 387; ароматическая аминокислота, например, Trp или Gly (например, Trp) в положении 388; Val, Ser или Ala в положении 389; кислая аминокислота, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro в положении 413; Thr или кислая аминокислота в положении 416; или Trp, Tyr, His или Phe в положении 421. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), может содержать консервативную замену, например, аминокислоту в той же зарядовой группе, группе гидрофобности, группе структуры кольца боковой цепи (например, ароматические аминокислоты) или группе размера и/или полярной или неполярной группы указанной аминокислоты в одном или более положениях в наборе. Так, например, Ile может находиться в положении 384, 386 и/или в положении 413. В некоторых вариантах осуществления кислая аминокислота в положениях один, два или в каждом из положений 387, 413 и 416 представляет собой Glu.

В других вариантах осуществления кислая аминокислота в одном, двух или каждом из положений 387, 413 и 416 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления два, три, четыре, пять, шесть, семь или все восемь положений 384, 386, 387, 388, 389, 413, 416 и 421 имеют аминокислотную замену, как указано в этом абзаце.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, имеющий модификации в аминокислотных положениях 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и/или 421, содержит нативный Asn в положении 390. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc содержит Gly, His, Gln, Leu, Lys, Val, Phe, Ser, Ala или Asp в положении 390. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc дополнительно содержит одну, две, три или четыре замены в положениях, включающих 380, 391, 392 и 415. В некоторых вариантах осуществления Trp, Tyr, Leu или Gln могут находиться в положении 380. В некоторых вариантах осуществления Ser, Thr, Gln или Phe могут находиться в положении 391. В некоторых вариантах осуществления Gln, Phe или His могут находиться в положении 392. В некоторых вариантах осуществления Glu может находиться в положении 415.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc содержит два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять положений, выбранных из следующих: Trp, Leu или Glu в положении 380; Tyr или Phe в положении 384; Thr в положении 386; Glu в положении 387; Trp в положении 388; Ser, Ala, Val или Asn в положении 389; Ser или Asn в положении 390; Thr или Ser в положении 413; Glu или Ser в положении 415; Glu в положении 416; и/или Phe в положении 421. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc содержит все одиннадцать положений следующим образом: Trp, Leu или Glu в положении 380; Tyr или Phe в положении 384; Thr в положении 386; Glu в положении 387; Trp в положении 388; Ser, Ala, Val или Asn в положении 389; Ser или Asn в положении 390; Thr или Ser в положении 413; Glu или Ser в положении 415; Glu в положении 416; и/или Phe в положении 421.

В определенных вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, Tfr), содержит Leu или Met в положении 384; Leu, His или Pro в положении 386; Val на положении 387; Trp в положении 388; Val или Ala в положении 389; Pro в положении 413; Thr в положении 416; и/или Trp в положении 421. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc дополнительно содержит Ser, Thr, Gln или Phe в положении 391. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 380 и/или Gln, Phe или His в положении 392. В некоторых вариантах осуществления Trp находится в положении 380 и/или Gln находится в положении 392. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептором ВВВ (например, Tfr), не имеет Trp в положении 380.

В других вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), содержит Tyr в положении 384; Thr в положении 386; Glu или Val в положении 387; Trp в положении 388; Ser в положении 389; Ser или Thr в положении 413; Glu в положении 416; и/или Phe в положении 421. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор BBB (например, TfR), содержит нативный Asn в положении 390. В определенных вариантах осуществления полипептид Fc дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 380; и/или Glu в положении 415. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc дополнительно содержит Trp в положении 380 и/или Glu в положении 415.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор BBB (например, TfR), содержит одну или более из следующих замен: Trp в положении 380; Thr в положении 386; Trp в положении 388; Val в положении 389; Ser или Thr в положении 413; Glu в положении 415; и/или Phe в положении 421.

В дополнительных вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор BBB (например, TfR), дополнительно содержит одно, два или три положения, выбранные из следующего: положение 414 представляет собой Lys, Arg, Gly или Pro; положение 424 представляет собой Ser, Thr, Glu или Lys; и положение 426 представляет собой Ser, Trp или Gly.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), имеет последовательность SEQ ID NO:135. В некоторых вариантах осуществления биспецифических белков, описанных в данном документе, один из двух полипептидов Fc в димере полипептида Fc может представлять собой полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), имеющий последовательность SEQ ID NO:135, в то время как другой полипептид Fc в димере полипептида Fc может иметь последовательность полипептида Fc дикого типа (например, SEQ ID NO:130). В других вариантах осуществления биспецифических белков, описанных в данном документе, оба полипептида Fc в димере полипептида Fc могут представлять собой полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), имеющий последовательность SEQ ID NO:135.

В некоторых вариантах осуществления биспецифических белков, описанных в данном документе, первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%,

95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO:135-139.

В некоторых вариантах осуществления биспецифических белков, описанных в данном документе, один из двух полипептидов Fc в димере полипептида Fc может представлять собой полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), содержащий Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:135, в то время как другой полипептид Fc в димере полипептида Fc может иметь последовательность полипептида Fc дикого типа (например, SEQ ID NO:130).

В некоторых вариантах осуществления биспецифических белков, описанных в данном документе, первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ala в положении 389, Thr в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO:140-144.

В некоторых вариантах осуществления биспецифических белков, описанных в данном документе, один из двух полипептидов Fc в димере полипептида Fc может представлять собой полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), содержащий Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ala в положении 389, Thr в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:140, в то время как другой полипептид Fc в димере полипептида Fc может иметь последовательность полипептида Fc дикого типа (например, SEQ ID NO:130).

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), имеет последовательность SEQ ID NO:140. В некоторых вариантах осуществления биспецифических белков, описанных в данном документе, один из двух полипептидов Fc в димере полипептида Fc может представлять собой полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), имеющий последовательность SEQ ID

NO:140, в то время как другой полипептид Fc в димере полипептида Fc может иметь последовательность полипептида Fc дикого типа (например, SEQ ID NO:130). В других вариантах осуществления биспецифических белков, описанных в данном документе, оба полипептида Fc в димере полипептида Fc могут представлять собой полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), имеющий последовательность SEQ ID NO:140.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), имеет последовательность SEQ ID NO:145. В некоторых вариантах осуществления биспецифических белков, описанных в данном документе, один из двух полипептидов Fc в димере полипептида Fc может представлять собой полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), имеющий последовательность SEQ ID NO:145, в то время как другой полипептид Fc в димере полипептида Fc может иметь последовательность полипептида Fc дикого типа (например, SEQ ID NO:130). В других вариантах осуществления биспецифических белков, описанных в данном документе, оба полипептида Fc в димере полипептида Fc могут представлять собой полипептид Fc, связывающий рецептор ГЭБ (например, TfR), имеющий последовательность SEQ ID NO:145.

Модификации полипептида Fc для гетеродимеризации

В некоторых вариантах осуществления полипептиды Fc, присутствующие в любом биспецифическом белке, описанном в данном документе, включают мутации типа «выступа» и «впадина», способствующие образованию гетеродимера и препятствующие образованию гомодимера. Как правило, модификации вводят выпуклость («выступ») на границе первого полипептида и соответствующую полость («впадину») на поверхности взаимодействия второго полипептида, так что выступ можно расположить в полости таким образом, чтобы способствовать образованию гетеродимера и, таким образом, препятствовать образованию гомодимера. Выступы конструируются путем замены небольших боковых цепей аминокислот с поверхности взаимодействия первого полипептида более крупными боковыми цепями (например, тирозина или триптофана). На поверхности взаимодействия второго полипептида создаются компенсирующие полости идентичного или подобного размера выступам путем замены больших боковых цепей аминокислот на более мелкие (например, аланин или треонин). В некоторых вариантах осуществления такие дополнительные мутации находятся в положении полипептида Fc, которое не оказывает отрицательного влияния на связывание полипептида с рецептором ГЭБ, например, TfR.

В одном иллюстративном варианте осуществления подхода «выступ-во-впадину»

для димеризации положение 366 (нумерация в соответствии со схемой нумерации EU) одного из полипептидов Fc, присутствующих в биспецифическом белке, содержит триптофан вместо нативного треонина. Другой полипептид Fc в димере имеет валин в положении 407 (нумерация согласно схеме нумерации EU) вместо нативного тирозина. Другой полипептид Fc может дополнительно содержать замену, в которой нативный треонин в положении 366 (нумерация согласно схеме нумерации EU) заменен серином, а нативный лейцин в положении 368 (нумерация согласно схеме нумерации EU) заменен аланином. Таким образом, один из полипептидов Fc биспецифического белка, описанного в данном документе, имеет мутацию типа «выступ» T366W, а другой полипептид Fc имеет мутацию Y407V, которая, как правило, сопровождается мутациями типа «впадина» T366S и L368A.

В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc, которые содержатся в биспецифическом белке, также могут быть сконструированы так, чтобы они содержали другие модификации для гетеродимеризации, например, модификацию электростатических взаимодействий контактных остатков на поверхности взаимодействия CH3-CH3, которые представляют собой модификации естественно заряженных или гидрофобных участков.

Например, в некоторых вариантах осуществления биспецифический белок, описанный в данном документе, может содержать димер полипептида Fc, который имеет один полипептид Fc, имеющий мутацию типа «выступ» T366W, и по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности с последовательностью SEQ ID NO:131, и другой полипептид Fc, имеющий мутации типа «впадина» T366S, L368A и Y407V, и по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc в димере полипептида Fc могут представлять собой TfR-связывающий полипептид Fc. В конкретных вариантах осуществления биспецифический белок, описанный в данном документе, может содержать димер полипептида Fc, который имеет (i) первый полипептид Fc, имеющий последовательность SEQ ID NO:133, и (ii) второй полипептид Fc, имеющий последовательность SEQ ID NO:136. В конкретных вариантах осуществления биспецифический белок, описанный в данном документе, может содержать димер полипептида Fc, который имеет (i) первый полипептид Fc, имеющий последовательность SEQ ID NO:133, и (ii) второй полипептид Fc, имеющий последовательность SEQ ID NO:141. В конкретных вариантах осуществления биспецифический белок, описанный в данном документе, может содержать димер полипептида Fc, который имеет (i) первый полипептид Fc, имеющий по меньшей мере

90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133, и (ii) второй полипептид Fc, имеющий последовательность SEQ ID NO:146.

Модификации полипептида Fc для модулирования эффекторной функции

В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc, которые содержатся в любом биспецифическом белке, описанном в данном документе, могут содержать модификации, снижающие эффекторную функцию, т.е. обладающие сниженной способностью индуцировать определенные биологические функции при связывании с Fc-рецептором, экспрессируемым на эффекторной клетке, которая опосредует эффекторную функцию. Примеры эффекторных функций антител включают, но не ограничиваются ими, связывание C1q и комплементзависимую цитотоксичность (КЗЦ), связывание с Fc-рецептором, антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (АЗКЦ), антителозависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз (АЗКФ), снижение экспрессии рецепторов клеточной поверхности (например, В-клеточного рецептора) и активацию В-клеток. Эффекторные функции могут различаться в зависимости от класса антител. Например, нативные антитела IgG1 и IgG3 человека могут вызывать активность АЗКЦ и КЗЦ при связывании с соответствующим Fc-рецептором, присутствующим в клетке иммунной системы; и нативные человеческие IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 могут вызывать функции АЗКФ при связывании с соответствующим Fc-рецептором, присутствующим на иммунной клетке.

В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc, которые содержатся в биспецифическом белке, описанном в данном документе, могут содержать модификации, снижающие или устраняющие эффекторную функцию. Иллюстративные мутации полипептида Fc, которые снижают эффекторную функцию, включают, но не ограничиваются ими, замены в домене CH2, например, в положениях 234 и 235, в соответствии со схемой нумерации EU. Например, в некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc могут содержать остатки аланина в положениях 234 и 235. Таким образом, один или оба полипептида Fc могут иметь замены L234A и L235A (также называемые в данном документе «LALA»).

Дополнительные мутации полипептида Fc, которые модулируют эффекторную функцию, включают, но не ограничиваются ими, следующее: положение 329 может иметь мутацию, в которой пролин замещен глицином, аланином, серином или аргинином или аминокислотным остатком, достаточно большим для разрушения поверхности контакта Fc/Fcγ-рецептора, которая образуется между пролином 329 из Fc и остатками триптофана Trp 87 и Trp 110 из FcγRIII. Дополнительные иллюстративные замены включают S228P, E233P, L235E, N297A, N297D, и P331S в соответствии со схемой нумерации EU. Также

могут присутствовать множественные замены, например, L234A и L235A области Fc IgG1 человека; L234A, L235A и P329G области Fc IgG1 человека; S228P и L235E области Fc IgG4 человека; L234A и G237A области Fc IgG1 человека; L234A, L235A и G237A области Fc IgG1 человека; V234A и G237A области Fc IgG2 человека; L235A, G237A и E318A области Fc IgG4 человека; и S228P и L236E области Fc IgG4 человека, в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc могут иметь одну или более аминокислотных замен, которые модулируют АЗКЦ, например, замены в положениях 298, 333 и/или 334 в соответствии со схемой нумерации EU.

Конфигурация «цис-LALA»

В некоторых вариантах осуществления любого биспецифического белка, описанного в данном документе, только один из двух полипептидов Fc (но не оба полипептида Fc) из двух полипептидов Fc в биспецифическом белке модифицирован для снижения эффекторной функции и связывания TfR. Другой полипептид Fc не содержит сайта связывания TfR или каких-либо модификаций, снижающих эффекторную функцию. Димер полипептида Fc в биспецифическом белке, который имеет только один из двух полипептидов Fc, содержащий как сайт связывания TfR, так и модификации, снижающие связывание FcγR (например, замены LALA), в то время как другой полипептид Fc не содержит сайта связывания TfR или любые модификации, снижающие связывание FcγR, называются имеющими конфигурацию цис-LALA.

Например, в некоторых вариантах осуществления биспецифический белок, описанный в данном документе, может содержать димер полипептида Fc, имеющий конфигурацию цис-LALA, который имеет (i) первый полипептид Fc, имеющий последовательность SEQ ID NO:137, который имеет как сайт связывания TfR и замены LALA, а также модификацию типа «выступ», и (ii) второй полипептид Fc, имеющий по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133, который имеет только модификацию типа «впадина». В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок, описанный в данном документе, может содержать димер полипептида Fc, имеющий конфигурацию цис-LALA, который имеет (i) первый полипептид Fc, имеющий последовательность SEQ ID NO:142, который имеет как сайт связывания TfR и замены LALA, а также модификацию типа «выступ», и (ii) второй полипептид Fc, имеющий по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133, который имеет только модификацию типа «впадина». В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок, описанный в данном документе, может содержать димер полипептида Fc, имеющий конфигурацию цис-LALA, который имеет (i)

первый полипептид Fc, имеющий последовательность SEQ ID NO:147, который имеет как сайт связывания TfR и замены LALA, а также модификацию типа «выступ», и (ii) второй полипептид Fc, имеющий по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133, который имеет только модификацию типа «впадина».

В конкретных вариантах осуществления биспецифический белок, описанный в данном документе, может содержать димер полипептида Fc, имеющий конфигурацию цис-LALA, который имеет (i) первый полипептид Fc, содержащий Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tug в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421, в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137, и (ii) второй полипептид Fc, содержащий Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407, в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133.

В конкретных вариантах осуществления биспецифический белок, описанный в данном документе, может содержать димер полипептида Fc, имеющий конфигурацию цис-LALA, который имеет (i) первый полипептид Fc, содержащий Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133, и (ii) второй полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tug в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:137.

В конкретных вариантах осуществления биспецифический белок, описанный в данном документе, может содержать димер полипептида Fc, имеющий конфигурацию цис-LALA, который имеет (i) первый полипептид Fc, содержащий Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tug в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ala в положении 389, Thr в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421, в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:142, и (ii) второй полипептид Fc, содержащий Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407, в соответствии с нумерацией

EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133.

В конкретных вариантах осуществления биспецифический белок, описанный в данном документе, может содержать димер полипептида Fc, имеющий конфигурацию цис-LALA, который имеет (i) первый полипептид Fc, содержащий Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407, в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность с последовательностью SEQ ID NO:133, и (ii) второй полипептид Fc, содержащий Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tug в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ala в положении 389, Thr в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421, в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:142.

Модификации полипептида Fc для продления времени полужизни в сыворотке

В некоторых вариантах осуществления модификации для увеличения времени полужизни в сыворотке могут быть введены в любой описанный в данном документе биспецифический белок. Например, в некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc, присутствующие в биспецифическом белке, описанном в данном документе, могут содержать тирозин в положении 252, треонин в положении 254 и глутаминовую кислоту в положении 256, пронумерованных в соответствии со схемой нумерации EU. Таким образом, один или оба полипептида Fc могут иметь замены M252Y, S254T и T256E. В альтернативном варианте один или оба полипептида Fc могут содержать замены M428L и N434S, пронумерованные в соответствии со схемой нумерации EU. В альтернативном варианте один или оба полипептида Fc могут содержать замену N434S или N434A.

Полипептид Fc с удаленным C-концевым остатком лизина

В некоторых вариантах осуществления биспецифических белков, описанных в данном документе, у одного или обоих полипептидов Fc может быть удален C-концевой лизин (например, остаток Lys в положении 447 полипептида Fc в соответствии с нумерацией EU). C-концевой остаток лизина является высококонсервативным в иммуноглобулинах многих видов и может быть полностью или частично удален клеточным механизмом во время выработки белка. В некоторых вариантах осуществления удаление C-концевых лизинов в полипептидах Fc может улучшить стабильность биспецифических белков.

V. ЛИНКЕРЫ

Как описано в данном документе, биспецифический белок может содержать один или более линкеров. Линкер относится к связи между двумя элементами (т. е. между областью V_H и областью V_L, между полипептидом scFv и Fc, между scFv и Fd-частью, между областью scFv и легкой цепью, между областью V_H или областью V_L и Fd-частью, между областью V_H или областью V_L и легкой цепью или между областью V_H или областью V_L и полипептидом Fc) в биспецифическом белке. В некоторых вариантах осуществления линкер может представлять собой пептидный линкер, который может связывать два элемента в биспецифическом белке для обеспечения пространства и/или гибкости.

В некоторых вариантах осуществления линкер может включать 1-100 аминокислот (например, 1-90, 1-80, 1-70, 1-60, 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10, 1-8, 1-6, 1-4, 5-100, 10-100, 15-100, 20-100, 30-100, 40-100, 50-100, 60-100, 70-100, 80-100, 90-100, 10-90, 10-80, 10-70, 10-60, 10-50, 10-40, 10-30, 10-25, 10-20 или 10-15 аминокислот). В некоторых вариантах осуществления линкер между двумя мономерами домена Fc представляет собой аминокислотный спейсер, содержащий 1-30 аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, или 30 аминокислот). Линкеры могут содержать природные аминокислоты, неприродные аминокислоты или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления линкер может быть гибким линкером, например, содержащим аминокислоты, такие как Gly, Asn, Ser, Thr, Ala и т.п. Такие линкеры могут быть сконструированы с использованием известных параметров и могут иметь любую длину и содержать любое количество повторяющихся звеньев любой длины (например, повторяющиеся звенья остатков Gly и Ser). Например, линкер может иметь повторы, такие как два, три, четыре, пять или более повторов GGGGS (SEQ ID NO:117), GGSG (SEQ ID NO:151), GSGG (SEQ ID NO:152) или SGGG (SEQ ID NO:153), или один повтор GGGGS (SEQ ID NO:117), GGSG (SEQ ID NO:151), GSGG (SEQ ID NO:152) или SGGG (SEQ ID NO:153). Примеры гибких линкеров, содержащих остатки Gly и Ser, включают, но не ограничиваются ими, GGS GGSGGGSGGGSGGGSGG (SEQ ID NO:116; (GGSG)₅), GGGGS (SEQ ID NO:117; G₄S), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:118; (G₄S)₂), GGGSGGGSGGGSGG (SEQ ID NO:119; (G₄S)₃), GGGSGGGSGGGG (SEQ ID NO:120; (G₄S)₂-G₄), GGGSGGGSGG (SEQ ID NO:121), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:122), и GGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:123).

В некоторых вариантах осуществления линкер может также содержать аминокислоты, отличные от глицина и серина, например, GGGGSEPKSS (SEQ ID NO:124), ASTKGPSVF (SEQ ID NO:125) или RTVAAPSVFI (SEQ ID NO:126). Примеры

других линкеров также описаны в данной области техники, см., например, Chen *et al. Adv. Drug Deliv Rev.* 65(10):1357-1369, 2013.

VI. ПОЛУЧЕНИЕ БИСПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ

Для получения описанного в данном документе биспецифического белка можно использовать многие методики, известные в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления гены, кодирующие тяжелые и легкие цепи представляющего интерес антитела, можно клонировать из клетки, например, из гибридомы. Генные библиотеки, кодирующие тяжелые и легкие цепи моноклональных антител, также могут быть получены из гибридомных или плазматических клеток. В качестве альтернативы можно использовать технологию фагового или дрожжевого дисплея для идентификации антител и фрагментов Fab, которые специфически связываются с выбранными антигенами.

Биспецифические белки могут быть получены с использованием любого количества систем экспрессии, включая прокариотические и эукариотические системы экспрессии. В некоторых вариантах осуществления система экспрессии представляет собой систему экспрессии клеток млекопитающих, такую как гибридома, или систему экспрессии клеток CHO. Многие такие системы широко доступны у коммерческих поставщиков. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды, кодирующие полипептиды, содержащие биспецифический белок, могут быть экспрессированы с использованием одного вектора, например, в дицистронной единице экспрессии или под контролем разных промоторов. В других вариантах осуществления полинуклеотиды, кодирующие полипептиды, содержащие биспецифический белок, могут быть экспрессированы с использованием отдельных векторов.

В некоторых аспектах изобретение относится к выделенным нуклеиновым кислотам, содержащим последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую любой из полипептидов, содержащих биспецифические белки, как описано в данном документе; векторы, содержащие такие нуклеиновые кислоты; и клетки-хозяева, в которые вводят нуклеиновые кислоты, используемые для репликации нуклеиновых кислот и/или для экспрессии биспецифических белков.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид (например, выделенный полинуклеотид) включает нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид, который включает биспецифический белок, как описано в данном документе (например, как описано в разделе III выше). В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую одну или более аминокислотных последовательностей (например, последовательности тяжелой цепи,

легкой цепи и/или полипептида Fc), описанные в неофициальном перечне последовательностей ниже. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности последовательности (например, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности) с последовательностью, описанной в неофициальном перечне последовательностей ниже. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, описанный в данном документе, функционально связан с гетерологичной нуклеиновой кислотой, например, гетерологичным промотором.

Подходящие векторы, содержащие полинуклеотиды, кодирующие антитела по настоящему изобретению, или их фрагменты, включают векторы клонирования и векторы экспрессии. Хотя выбранный вектор клонирования может варьироваться в зависимости от клетки-хозяина, предназначенной для использования, полезные векторы клонирования, как правило, обладают способностью к саморепликации, могут иметь одну мишень для конкретной рестрикционной эндонуклеазы и/или могут нести гены для маркера, который может быть использован при отборе клонов, содержащих вектор. Примеры включают плазмиды и бактериальные вирусы, например pUC18, pUC19, Bluescript (например, pBS SK+) и их производные, mpl8, mpl9, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, ДНК фага и челночные векторы, такие как pSA3 и pAT28. Эти и многие другие векторы клонирования доступны от коммерческих поставщиков, таких как BioRad, Stratagene и Invitrogen.

Векторы экспрессии, как правило, представляют собой реплицируемые полинуклеотидные конструкции, которые содержат нуклеиновую кислоту по данному изобретению. Вектор экспрессии может реплицироваться в клетках-хозяевах либо в виде эписом, либо в качестве неотъемлемой части хромосомной ДНК. Подходящие векторы экспрессии включают, но не ограничиваются ими, плазмиды, вирусные векторы, включая аденовирусы, аденоассоциированные вирусы, ретровирусы и любой другой вектор.

Подходящие клетки-хозяева для клонирования или экспрессии полинуклеотида или вектора, как описано в данном документе, включают прокариотические или эукариотические клетки. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин является прокариотической. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин является эукариотической, например, клетками яичника китайского хомяка (CHO) или лимфоидными клетками. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой клетку человека, например клетку почки эмбриона человека (НЕК).

В другом аспекте предложены способы получения биспецифического белка, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ включает культивирование клетки-хозяина, как описано в данном документе (например, клетки-хозяина, экспрессирующей полинуклеотид или вектор, как описано в данном документе), в условиях, подходящих для экспрессии биспецифического белка. В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок впоследствии выделяют из клетки-хозяина (или культуральной среды клетки-хозяина). В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок очищают, например, с помощью хроматографии.

VII. ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ

В некоторых аспектах в данном документе предложены способы лечения рака (например, HER2-положительного рака) или лечения метастазов в головной мозг при раке (например, HER2-положительного рака) у субъекта путем введения субъекту терапевтически эффективного количества любого биспецифического белка, описанного в данном документе, или фармацевтической композиции, содержащей его. В данном документе также предложены способы транцитоза вариабельной области антитела, которая способна связывать HER2 (например, HER2 человека) или ее антигенсвязывающий фрагмент, через эндотелий. В некоторых вариантах осуществления способы включают приведение эндотелия в контакт с композицией, содержащей биспецифический белок, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления эндотелий представляет собой гематоэнцефалический барьер (ГЭБ).

Неограничивающие примеры видов HER2-положительного рака, которые можно лечить в соответствии со способами, представленными в данном документе, включают HER2-положительный рак молочной железы, яичников, мочевого пузыря, слюнных желез, эндометрия, поджелудочной железы и немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), а также HER2-положительную аденокарциному желудка и/или HER2-положительную аденокарциному гастроэзофагеального соединения. В некоторых вариантах осуществления HER2-положительный рак представляет собой HER2-положительный рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления HER2-положительный рак представляет собой HER2-положительную аденокарциному желудка и/или HER2-положительную аденокарциному гастроэзофагеального соединения. В некоторых вариантах осуществления HER2-положительное рак представляет собой метастатический рак.

В других аспектах в данном документе предложены способы лечения метастазов рака (например, HER2-положительного рака). В некоторых вариантах осуществления способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества

описанного в данном документе биспецифического белка к HER2. В некоторых вариантах осуществления метастазы представляют собой метастазы в головной мозг при HER2-положительном раке, описанном выше. В некоторых вариантах осуществления метастазы представляют собой метастазы в головной мозг при HER2-положительном раке молочной железы. В некоторых вариантах осуществления метастазы представляют собой метастазы головного мозга при HER2-положительной аденокарциноме желудка и/или HER2-положительной аденокарциноме гастроэзофагеального соединения.

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

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок к HER2 противодействует активности HER2. В некоторых вариантах осуществления, активность HER2 ингибируется (например, на по меньшей мере около 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или более).

Способ введения биспецифического белка к HER2, описанного в данном документе, может быть пероральным, внутривенным, внутримышечным, интратекальным, ингаляционным, местным, внутриочаговым, ректальным, внутривенным, интратекальным, интраназальным, трансмукозальным, кишечным введением, посредством введения в глаз или ухо, или любым другим способом, известным в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок к HER2 вводят перорально, внутривенно или внутримышечно.

VIII. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ И НАБОРЫ

В других аспектах предложены фармацевтические композиции и наборы, содержащие биспецифический белок к HER2 в соответствии с изобретением.

Фармацевтические композиции

Руководство по приготовлению составов для применения в изобретении можно найти в ряде справочников по фармацевтическим препаратам и составам, которые известны специалистам в данной области техники.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит биспецифический белок к HER2, как описано в данном документе, и дополнительно

содержит один или более фармацевтически приемлемых носителей и/или эксципиентов. Фармацевтически приемлемый носитель включает любые растворители, дисперсионные среды или покрытия, которые являются физиологически совместимыми и которые не препятствуют активности активного агента или иным образом не ингибируют ее.

В некоторых вариантах осуществления биспецифический белок может быть приготовлен для парентерального введения путем инъекции. Как правило, фармацевтическая композиция для применения при *in vivo* введении является стерильной, например, была подвергнута термостерилизации, стерилизации паром, стерильной фильтрации или облучению.

Дозировки и необходимая концентрация лекарственного средства в фармацевтических композициях, описанных данным документе, могут варьироваться в зависимости от конкретного предполагаемого использования.

Наборы

В некоторых вариантах осуществления предложен набор для применения в лечении рака (например, HER2-положительного рака), содержащий биспецифический белок, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит одно или более дополнительных терапевтических средств. Например, в некоторых вариантах осуществления набор содержит биспецифический белок, как описано в данном документе, и дополнительно включает один или более дополнительных терапевтических агентов для применения в лечении рака. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит учебные материалы, содержащие указания (т. е. протоколы) для применения способов, описанных в данном документе (например, инструкции по применению набора для введения биспецифического белка). Хотя учебные материалы, как правило, содержат письменные или печатные материалы, это не ограничивается ими. Любой носитель информации, способный хранить такие инструкции и передавать их конечному пользователю, предусмотрен настоящим изобретением. Такие носители информации включают, но не ограничиваются этим, электронные носители данных (например, магнитные диски, ленты, картриджи, чипы), оптические носители (например, CD-ROM) и т. п. Такие носители информации могут включать адреса интернет-сайтов, на которых предоставлены такие инструктирующие материалы.

IX. ПРИМЕРЫ

Настоящее изобретение будет описано более подробно на конкретных примерах. Следующие примеры ниже предлагаются только для иллюстративных целей и никоим образом не предназначены для ограничения изобретения.

Пример 1. Получение биспецифических белков

Сконструированные белки, имеющие структуру биспецифического белка, как описано в данном документе и показано на фиг. 1-5, были созданы для нацеливания на субдомен II HER2 человека и субдомен IV HER2 человека. В некоторых конструкциях был удален С-концевой лизин полипептида Fc. В некоторых конструкциях части Fd ($V_H + CH1$) клонировали в векторы экспрессии, содержащие последовательность, кодирующую полипептид Fc. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc был сконструирован так, чтобы иметь сайт связывания Tfr. В некоторых вариантах осуществления конструкций один из полипептидов Fc содержал сайт связывания Tfr и мутацию типа «выступ» (T366W) (например, SEQ ID NO:137), в то время как другой полипептид Fc содержал мутации типа «впадина» (T366S/L368A/Y407V) (например, SEQ ID NO:133). Кроме того, один или оба полипептида Fc также содержат мутации L234A/L235A, которые ослабляют связывание FcγR.

Векторы котрансфицировали в клетки ExpiCHO или Expi293 вместе с соответствующим вектором легкой цепи в соотношении выступ:впадина:легкая цепь 1:1:2. Экспрессированный белок очищали из кондиционированной среды, загружая супернатант на колонку с белком А. Колонку промывали 10 колоночными объемами PBS, pH 7,4. Белки элюировали 50 mM цитратом натрия, pH 3,0, содержащим 150 mM NaCl, и немедленно нейтрализовали 200 mM аргинина, 137 mM янтарной кислоты, pH 5,0. Белки дополнительно очищали с помощью эксклюзионной хроматографии (ЭХ) (GE Superdex200) с использованием 200 mM аргинина, 137 mM янтарной кислоты, pH 5,0 в качестве рабочего буфера. Очищенные белки подтверждали с помощью ЖХ/МС интактной массы, а чистоту >95% подтверждали с помощью ДСН-ПААГ-электрофореза и аналитической ВЭЖХ-ЭХ. Были созданы биспецифические белки к HER2, содержащие немодифицированные константные области IgG1 человека. В таблице 1 ниже представлены последовательности биспецифических белков к HER2 и двух контрольных антител к HER2.

Таблица 1

	Тяжелая цепь 1	Тяжелая цепь 2	Легкая цепь
Биспецифический белок № 1	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:26
Биспецифический белок № 2	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:22	SEQ ID NO:25
Биспецифический белок № 3	SEQ ID NO:18	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:25
Биспецифический белок № 4	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:37	SEQ ID NO:26
Биспецифический белок № 5	SEQ ID NO:33	SEQ ID NO:38	SEQ ID NO:26

	Тяжелая цепь 1	Тяжелая цепь 2	Легкая цепь
Биспецифический белок № 6	SEQ ID NO:63	SEQ ID NO:66	SEQ ID NO:79
Биспецифический белок № 7	SEQ ID NO:82	SEQ ID NO:99	SEQ ID NO:25
Биспецифический белок № 8	SEQ ID NO:90	SEQ ID NO:107	SEQ ID NO:26
Биспецифический белок № 9	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:44	SEQ ID NO:25
Биспецифический белок № 10	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:50	SEQ ID NO:26
Биспецифический белок № 11	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:156	SEQ ID NO:26
Биспецифический белок № 12	SEQ ID NO:45	SEQ ID NO:50	SEQ ID NO:26
Биспецифический белок № 13	SEQ ID NO:46	SEQ ID NO:156	SEQ ID NO:26
Биспецифический белок № 14	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:157	SEQ ID NO:26
Биспецифический белок № 15	SEQ ID NO:63	SEQ ID NO:67	SEQ ID NO:79
Биспецифический белок № 16	SEQ ID NO:82	SEQ ID NO:100	SEQ ID NO:25
Биспецифический белок № 17	SEQ ID NO:90	SEQ ID NO:158	SEQ ID NO:26
Биспецифический белок № 18	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:23	SEQ ID NO:25
Биспецифический белок № 19	SEQ ID NO:24	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:25
Контроль к HER2DIV	SEQ ID NO:154	SEQ ID NO:154	SEQ ID NO:26
Контроль к HER2DII	SEQ ID NO:155	SEQ ID NO:155	SEQ ID NO:25

Пример 2. Оценка Biacore биспецифических белков

Аффинность биспецифических белков измеряли с помощью ППР с использованием Biacore T200 или Biacore 8K. Сенсорные чипы Biacore™ Series S CM5 иммобилизовали моноклональным мышинным антителом к IgG человека (Fc) для измерения аффинности HER2 или антителом мыши к Fab человека для измерения аффинности TfR (человеческое антитело или набор для захвата Fab от GE Healthcare). Серийные 3-кратные разведения аналита (рекомбинантный внеклеточный домен HER2 или рекомбинантный апикальный домен TfR) вводили со скоростью потока 30 мкл/мин. Каждый образец анализировали с использованием 3-минутной ассоциации и 10-минутной диссоциации для связывания внеклеточного домена HER2 и 40-секундной ассоциации и 3-минутной диссоциации для связывания апикального домена TfR человека. После каждой инъекции чип регенерировали с использованием 3 М MgCl₂ или 50 мМ глицина при pH 2,0. Ответ связывания корректировали путем вычитания RU из проточной кюветы, улавливающей нерелевантный IgG с аналогичной плотностью. Для анализа кинетики использовали модель Ленгмюра 1:1 с одновременной аппроксимацией kon и koff. K_D для конструкции «анти-HER2_DIV/DII_scFv_1» составляет 2,3 нМ, а K_D для конструкции «анти-

HER2_DIV/DII_scFv_2» составляет 1,9 нМ. Две конструкции описаны ниже.

Обе конструкции «анти-HER2_DIV/DII_scFv_1» и «анти-HER2_DIV/DII_scFv_2» имеют структуру «полипептид Fab-Fc/полипептид scFv-Fc». В конструкции «анти-HER2_DIV/DII_scFv_1» (a) содержит последовательность SEQ ID NO:1 (Fab к HER2DII, слитый с N-концом CH3C.35.23.4 с выступом LALA через шарнирную область), (b) содержит последовательность SEQ ID NO:23 (scFv к HER2DIV, слитый с N-концом полипептида Fc с мутацией типа «впадина» через шарнирную область), и (c) содержит последовательность SEQ ID NO:25. В конструкции «анти-HER2_DIV/DII_scFv_2» (a) содержит последовательность SEQ ID NO:5 (Fab к HER2DII, слитый с N-концом полипептида Fc с мутацией типа «впадина» через шарнирную область), (b) содержит последовательность SEQ ID NO:24 (scFv к HER2DIV, слитый с N-концом CH3C.35.23.4 с выступом LALA через шарнирную область), и (c) содержит последовательность SEQ ID NO:25. В обеих конструкциях часть scFv содержит область V_L к HER2DIV, имеющую замену Gln на Cys в положении 100 (SEQ ID NO:115), и область V_H к HER2DIV, имеющую замену Gly на Cys в положении 44 (SEQ ID NO:113). Также в обеих конструкциях шарнирная область на (b) имеет мутацию Cys в Ser в положении 5 (EPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:129)).

В таблице 2 ниже дополнительно показаны K_D для связывания HER2 и K_D для связывания TfR для биспецифических белков к HER2.

Таблица 2

	Связывание HER2, K_D (нМ)	Связывание TfR, K_D (нМ)
Контроль к HER2DIV	3,0	Н/Д
Контроль к HER2DII	2,9	Н/Д
Биспецифический белок № 1	3,0	460
Биспецифический белок № 2	0,024	480
Биспецифический белок № 3	0,027	450
Биспецифический белок № 4	0,019	470
Биспецифический белок № 5	0,031	540
Биспецифический белок № 6	0,0074	490
Биспецифический белок № 7	0,0038	350
Биспецифический белок № 8	0,0031	290

	Связывание HER2, K_D (нМ)	Связывание Tfr, K_D (нМ)
Биспецифический белок № 9	0,0033	500
Биспецифический белок № 10	0,0017	520
Биспецифический белок № 11	0,0028	470
Биспецифический белок № 12	0,0006	560
Биспецифический белок № 13	0,0008	600

Пример 3. Совместное нацеливание на субдомены II и IV Tfr и HER2

Многие опухолевые клетки и линии опухолевых клеток, такие как BT474 и OE19, экспрессируют как HER2, так и Tfr. Хотя хорошо известно, что антитела, нацеленные на субдомен IV HER2, способны ингибировать рост опухолевых клеток и снижать жизнеспособность опухолевых клеток в некоторых HER2⁺ линиях клеток, мы стремились понять, приведет ли совместное нацеливание на субдомен IV HER2 и Tfr к усиленному уничтожению клеток.

Использовали две конструкции, имеющие структуру «полипептид Fab-Fc/полипептид scFv-Fc». Конструкция «анти-HER2_DIV/DII_scFv_1» и конструкция «анти-HER2_DIV/DII_scFv_2» описаны в предыдущем примере.

Сначала мы сравнили обе конструкции и контрольные моноклональные антитела к HER2 в анализе ингибирования роста с HER2⁺ линией опухолевых клеток BT474, которая чувствительна к терапевтическим средствам против HER2. Клетки BT474 высевали в течение ночи из расчета 10000 клеток/лунку в 96-луночный планшет, обрабатывая 60 мкл серийного разведения 1:3 представляющих интерес молекул, начиная с 166 нМ (25000 нг/мл). Культуральную среду (RPMI) и лекарственные средства пополняли на 3-й день. На 6-й день определяли рост клеток с использованием 5 мкл реагента WST-1 (Sigma Aldrich) в 50 мкл питательной среды. Планшет инкубировали в течение 4 часов в присутствии реагента WST-1 и оптическую плотность определяли при 440 нм. Процент ингибирования роста/пролиферации рассчитывали на основе A440 нм и нормализовали по необработанному контролю. Как показано на фиг. 6А, комбинация анти-HER2-DIV и анти-HER2-DII снижала жизнеспособность клеток BT474 по сравнению с контролем с максимальным ингибированием около 87%. Аналогичным образом анти-HER2_DIV/DII_scFv_1 и анти-HER2_DIV/DII_scFv_2 продемонстрировали аналогичное максимальное ингибирование роста по сравнению с анти-HER2-DIV и анти-HER2-DII (фиг. 6А).

Затем мы сравнили две конструкции и контрольные моноклональные антитела к

HER2 с другой HER2⁺ линией раковых клеток OE19, которая устойчива к лечению анти-HER2. Как показано на фиг. 6B, в отличие от BT474, у которого не было различий между максимальным эффектом ингибирования роста двух конструкций анти-HER2_DIV/DII_scFv и комбинацией анти-HER2-DIV и анти-HER2-DII, линия клеток OE19 имела максимальное ингибирование примерно 80% при лечении анти-HER2_DIV/DII_scFv_1 и анти-HER2_DIV/DII_scFv_2, в то время как клетки были минимально чувствительны к комбинации анти-HER2-DIV и анти-HER2-DII. Эти результаты демонстрируют, что нацеливание на субдомен HER2 IV, субдомен HER2 II и TfR может привести к усиленному ингибированию роста клеток в резистентной к анти-HER2 линии клеток по сравнению с нацеливанием только на субдомены HER2. Следует отметить, что любое усиление может быть замаскировано, если линия клеток уже чувствительна к терапии против HER2.

Пример 4. Фармакокинетические свойства биспецифических белков к HER2 *in vivo*

Для оценки фармакокинетики биспецифических белков к HER2 в плазме *in vivo* в отсутствие связывания TfR мышам C57BL/6 внутривенно вводили 10 мг/кг биспецифических белков к HER2. Кровь собирали через 30 минут, 1 день, 4 дня и 7 дней после однократной дозы, перерабатывали в плазму и хранили при -80 °C до анализа. Общие терапевтические концентрации биспецифических белков в плазме определяли количественно с использованием сэндвич-ИФА с антителом к IgG человека (фиг. 7) и с использованием соответствующих дозированных растворов в качестве стандарта. Планшеты покрывали в течение ночи антителом к IgG человека, затем промывали 3 раза промывочным буфером. Стандарты и соответствующие разведенные образцы инкубировали при перемешивании в течение 2 часов при комнатной температуре. После инкубации планшеты промывали 3 раза промывочным буфером. Детектирующее антитело разводили в блокирующем буфере и планшеты инкубировали при перемешивании в течение 1 часа при комнатной температуре. После последней 3-кратной промывки планшеты проявляли добавлением субстрата TMB и инкубировали в течение 5-10 минут. Реакцию гасили и считывали, используя оптическую плотность 450 нМ (планшетный ридер Biotek). Все биспецифические белки к HER2 показали значения клиренса в пределах диапазона нормальных IgG.

Пример 5. Поглощение мозгом биспецифических белков к HER2 *in vivo*

Для оценки *in vivo* поглощения биспецифических белков к HER2 в головном мозге, мышам TfR^{mu/hu} KI внутривенно вводили 50 мг/кг биспецифических белков к HER2. Приблизительно через 24 часа после введения дозы цельную кровь собирали в пробирки,

покрытые ЭДТА, путем пункции сердца, затем животных перфузировали охлажденным льдом PBS. Клинический биохимический анализ крови и количественное определение ретикулоцитов (фиг. 8А) оценивали с использованием свежей цельной крови, а из отдельной аликвоты получали плазму. Большинство биспецифических белков к HER2 показали значения для ретикулоцитов в пределах нормального диапазона по сравнению с контрольными мышами, получавшими лечение.

Плазму и свежий мозг быстро замораживали на сухом льду и хранили при -80°C . Головной мозг гомогенизировали с 10-кратным объемом ткани 1% буфера NP40 в PBS с ингибиторами протеазы и фосфатазы с использованием Qiagen Tissue Lyser II; супернатант хранили при -80°C . Концентрации биспецифических белков к HER2 в плазме (фиг. 8В) и лизате головного мозга (фиг. 8С) количественно определяли с использованием сэндвич-ИФА. Концентрации в плазме показали ожидаемое Tfr-опосредованное распределение лекарственного средства; концентрации биспецифических белков к HER2 в головном мозге варьировались от приблизительно 15 нМ до 52 нМ в головном мозге, демонстрируя способность этих молекул связываться с Tfr на гематоэнцефалическом барьере и транспортироваться в головной мозг. Результирующее процентное соотношение концентраций составляло примерно 1-2% (фиг. 8D), что примерно в десять раз выше, чем ожидалось для антител, у которых отсутствует нацеливание на Tfr или которые лишены другого рецепторно-опосредованного трансцитоза. Эти данные демонстрируют и подтверждают, что многочисленные биспецифические белки к HER2 различных конструкций, описанные в данном документе, проникают в головной мозг.

Пример 6. Ингибирование роста биспецифических белков к HER2 *in vitro*

Эффективность ингибирования роста *in vitro* биспецифическими белками к HER2 и существующими на сегодняшний день терапевтическими средствами против HER2 оценивали с использованием различных HER2⁺ линий опухолевых клеток (BT474 (фиг. 9A-9F), OE19 (фиг. 9G-9I) и ZR75 (фиг. 9J-9L)), которые чувствительны к терапевтическим средствам против HER2. Опухолевые клетки высевали в течение ночи из расчета 10000 клеток/лунку в 96-луночный планшет, обрабатывая 60 мкл серийного разведения 1:3 представляющих интерес молекул, начиная с 166 нМ (25000 нг/мл). Культуральную среду (RPMI) и лекарственные средства добавляли на 3-й день. Для группы BT474, обработанной нейрегулином 1 (NRG1) (фиг. 9D-9F), клетки инкубировали в присутствии 50 нг/мл NRG1. На 6-й день определяли рост клеток, используя 5 мкл реагента WST-1 (Sigma Aldrich) в 50 мкл питательной среды. Планшет инкубировали в течение 4 часов в присутствии реагента WST-1 и оптическую плотность определяли при 440 нм. Процент ингибирования роста/пролиферации рассчитывали на основе A440 нм и

нормализовали по необработанному контролю. В таблице 3 ниже дополнительно показана эффективность ингибирования роста биспецифических белков к HER2 и контролей к HER2 в трех различных HER2⁺ линиях клеток. На фиг. 9A-9L и в таблице 3 показано, что в целом биспецифические белки к HER2 проявляют эквивалентное или превосходящее ингибирование роста, чем контроль к HER2DIV и контроль к HER2DII с Fc дикого типа. В некоторых линиях клеток с некоторыми биспецифическими белками к HER2 ингибирование роста было снижено по сравнению с контролем к HER2DIV или контролем к HER2DII с Fc дикого типа, возможно, из-за конкуренции за сайты связывания в определенных конфигурациях.

Таблица 3

	BT-474		BT474 + NRG1		OE19		ZR75-30	
	Мин. жизнеспособ- ность клеток (%)	IC50 (нМ)	Мин. жизнеспособ- ность клеток (%)	IC50 (нМ)	Мин. жизнеспособ- ность клеток (%)	IC50 (нМ)	Мин. жизнеспособ- ность клеток (%)	IC50 (нМ)
Контроль к HER2DIV	34	0,76	92	H/O	82	H/O	52	0,42
Контроль к HER2DII	80	H/O*	93	H/O	95	H/O	81	H/O
Контроль к HER2DIV + контроль к HER2DII	28	0,77	36	5,0	83	H/O	41	0,34
Биспецифический белок № 1	35	0,62	H/O	H/O	40	0,56	97	H/O
Биспецифический белок № 2	22	0,59	38	4,0	26	0,42	61	1,2
Биспецифический белок № 3	23	0,68	36	3,7	26	0,65	52	1,2
Биспецифический белок № 4	28	0,64	59	8,2	64	1,1	40	0,43
Биспецифический белок № 5	19	1,3	50	12	66	3,1	66	0,82
Биспецифический белок № 6	26	0,61	40	5,1	42	0,86	85	H/O
Биспецифический белок № 7	35	0,74	50	4,6	76	H/O	75	H/O
Биспецифический белок № 8	28	0,56	78	4,0	53	1,2	49	0,43
Биспецифический белок № 9	21	2,3	37	3,5	57	1,1	87	H/O
Биспецифический белок № 10	25	0,69	29	2,4	49	0,64	H/O	H/O
Биспецифический белок № 11	22	0,69	41	2,9	42	0,58	H/O	H/O
Биспецифический белок № 12	27	0,71	51	2,7	39	0,69	91	H/O
Биспецифический белок № 13	30	0,73	50	4,5	44	0,82	95	H/O

*H/O: не определено

НЕФОРМАЛЬНЫЙ ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA
2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA
3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK	Fab к HER2DII-Fc с выступом LALA
4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Fab к HER2DII-Fc с впадиной LALA

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Fab к HER2DII-Fc с впадиной
6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA
7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PVLDSGDSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA
8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK	Fab к HER2DIV-Fc с выступом LALA

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDS DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Fab к HER2DIV-Fc с впадиной LALA
10	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDS DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Fab к HER2DIV-Fc с впадиной
11	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSIGVAWYQQK PKAPKLLIYSASYRYTGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGG GGSGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTEM DWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGSGSIYNQRFKGRFTLSVD RSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQ GTLVTVSSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD DGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	scFv к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA (V _L -V _H scFv)
12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTEMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGSGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLLVT VSSGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGD RTITCKASQDVSIGVAWYQQKPKAPKLLIYSASYRYTG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFG QGTKVEIKGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSD DGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	scFv к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA (V _H -V _L scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
13	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTEMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQ GTLVTVSSGGGGSGGGGSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTPP VLDSGDSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DII - CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA
14	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTEMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQ GTLVTVSSGGGGSGGGGSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DII-Fc с выступом LALA
15	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTEMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQ GTLVTVSSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DII-Fc с впадиной LALA (V _L -V _H scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
16	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYSMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVD RSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQ GTLVTVSSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DII-Fc с впадиной (V _L -V _H scFv)
17	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYSMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQ GTLVTVSSGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DII-Fc с впадиной LALA (V _H -V _L scFv)
18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQ GTLVTVSSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA (V _L -V _H scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
19	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGS GGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PVLDS DGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFCSSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA
20	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGS GGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DIV-Fc с выступом LALA
21	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGS GGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWG QGTLVTVSSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PVLDS DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	scFv к HER2DIV-Fc с впадиной LALA (V _L -V _H scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
22	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGG GGSGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWG QGTLVTVSSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	scFv к HER2DIV-Fc с впадиной (V _L -V _H scFv)
23	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGG SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI HWVRQAPGKCLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWG QGTLVTVSSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	scFv к HER2DIV-Fc с впадиной (V _L -V _H scFv) (с двумя мутациями Cys в scFv и одной мутацией Cys в шарнире)
24	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGG SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI HWVRQAPGKCLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWG QGTLVTVSSGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTPPVLD SDSGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK	scFv к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA (V _L - V _H scFv) (с двумя мутациями Cys в scFv и одной мутацией Cys в шарнире)
25	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC	LC Fab к HER2DII

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
26	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC	LC Fab к HER2DIV
27	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSQSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSS	Fab к HER2DII - CH3C.35.23. 4 с выступом LALA-scFv к HER2DIV (V _L -V _H scFv)
28	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSQSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSSGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK	Fab к HER2DII-CH3C.35.23. 4 с выступом LALA-scFv к HER2DIV (V _H -V _L scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
29	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PVLDSGDSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYS GPSRFGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFG QGTEKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARI YPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA-scFv к HER2DIV
30	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYS GVPSRFGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTF GQTEKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGG LVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DII-Fc с выступом LALA-scFv к HER2DIV

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
31	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFVLYSGV PSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQ GTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIY PTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDT AVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DII-Fc с впадиной LALA-scFv к HER2DIV (V _L -V _H scFv)
32	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFVLYSGV PSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQ GTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIY PTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDT AVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DII-Fc с впадиной- scFv к HER2DIV (V _L -V _H scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
33	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYT GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKVEIKGGSGGGGSGGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGG LVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWV ADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLLVTVSS	Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA-scFv к HER2DII (V_L-V_H scFv)
34	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNP NSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARNLGPSFYFDYWGQGTLLTVSSGGSGGGSGGGSGG SGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVA WYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIK	Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA-scFv к HER2DII (V_H-V_L scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
35	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PVLDSGDSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFCSSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYT GVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGG LVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEWV ADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLLTVSS	Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA-scFv к HER2DII (V _L -V _H scFv)
36	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRY TGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF FGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLLTVSS	Fab к HER2DIV-Fc с выступом LALA-scFv к HER2DII (V _L -V _H scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
37	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTG VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFG QGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVA DVNPNSSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DIV-Fc с впадиной LALA-scFv к HER2DII (V _L -V _H scFv)
38	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTG VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFG QGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVA DVNPNSSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DIV-Fc с впадиной- scFv к HER2DII (V _L -V _H scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
39	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPKGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIK	Fab к HER2DIV-Fc с впадиной LALA-scFv к HER2DII (V _H -V _L scFv)
40	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPKGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFFVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DIV- Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA (V _L - V _H scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
41	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGG GGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSI YNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR NLGPSFYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVSKEE WQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DIV- Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA (VL- VH scFv)
42	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGG GGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSI YNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR NLGPSFYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DIV- Fab к HER2DII-Fc с выступом LALA (VL- VH scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
43	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGG GGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSI YNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR NLGPSFYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DIV- Fab к HER2DII-Fc с впадиной LALA (V_L- V_H scFv)
44	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGG GGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIH WVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSI YNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR NLGPSFYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DIV- Fab к HER2DII-Fc с впадиной (V_L-V_H scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
45	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTEMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGSGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DII-Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA (V _L - V _H scFv)
46	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTEMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGSGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DII-Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA (V _H - V _L scFv)
47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISSKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DII-Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
48	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGGS GGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTM DWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGSGSIYNQRFKGRFTLSVD RSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYA DSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWG GDGFYAMDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DII-Fab к HER2DIV- Fc c выступом LALA (V_L- V_H scFv)
49	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGGS GGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTM DWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGSGSIYNQRFKGRFTLSVD RSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYA DSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWG GDGFYAMDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DII-Fab к HER2DIV- Fc c впадиной LALA (V_L- V_H scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
50	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTEMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DII-Fab к HER2DIV- Fc с впадиной (V _L -V _H scFv)
51	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTEMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DII-Fab к HER2DIV- Fc с впадиной LALA (V _H - V _L scFv)
52	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGECGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSTRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	LC Fab к HER2DII- scFv к HER2DIV (V _L -V _H scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
53	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGECGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGV PSRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQ GTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDWRQAPGKGLEWVAD VNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQGLTVTVSS	LC Fab κ HER2DIV- scFv κ HER2DII (V _L -V _H scFv)
54	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGECGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGS LRLSCAASGFTFTDYMWDWRQAPGKGLEWVADVNPNS GGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARNLGPSFYFDYWGGQGLTVTVSSGGSGGGSGGGSGGG SGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVA WYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIK	LC Fab κ HER2DIV- scFv κ HER2DII (V _H -V _L scFv)
55	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGG GGSGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI HWRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWG QGTLTVTVSSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSR FSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	scFv κ HER2DIV- LC Fab κ HER2DII (V _L -V _H scFv)
56	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGG GGSGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYM DWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVD RSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGG GTLTVTVSSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFS GRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	scFv κ HER2DII-LC Fab κ HER2DIV (V _L -V _H scFv)

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
57	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQGLVTVSSGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTG VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFG QGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREA KVVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	scFv к HER2DII-LC Fab к HER2DIV (V _H -V _L scFv)
58	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVT VSSASTKGPSVFQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	V _H к HER2DIV- Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA
59	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVT VSSASTKGPSVFQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	V _H к HER2DIV- Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
60	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLV VSSASTKGPSVFEEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF TDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGR FTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYF DYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	V _H к HER2DIV- Fab к HER2DII-Fc с выступом LALA
61	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLV VSSASTKGPSVFEEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF TDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGR FTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYF DYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	V _H к HER2DIV- Fab к HER2DII-Fc с впадиной LALA
62	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLV VSSASTKGPSVFEEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF TDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGR FTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYF DYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	V _H к HER2DIV- Fab к HER2DII-Fc с впадиной

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
63	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQGLVT VSSASTKGPSVFEEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNI KDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYA MDYWGGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEW ESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	V _H к HER2DII-Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA
64	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQGLVT VSSASTKGPSVFEEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNI KDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYA MDYWGGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEW ESYGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	V _H к HER2DII-Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA
65	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQGLVT VSSASTKGPSVFEEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNI KDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYA MDYWGGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	V _H к HER2DII-Fab к HER2DIV- Fc с выступом LALA

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
66	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQGLVT VSSASTKGPSVFQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNI KDTYIHWRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYA MDYWGGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	V _H к HER2DII-Fab к HER2DIV- Fc с впадиной LALA
67	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQGLVT VSSASTKGPSVFQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNI KDTYIHWRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYA MDYWGGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	V _H к HER2DII-Fab к HER2DIV- Fc с впадиной
68	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFRSGSRSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKASTKGPSVFQVQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGL EWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQGLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLD SDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSVMSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK	V _L к HER2DIV- Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
69	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKASTKGPSVFQVEQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGL EWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGEWSNYKTTPPVLD DGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPGK	V _L к HER2DIV- к Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA
70	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKASTKGPSVFQVEQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGL EWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGK	V _L к HER2DIV- к Fab к HER2DII-Fc с выступом LALA
71	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKASTKGPSVFQVEQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGL EWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPGK	V _L к HER2DIV- к Fab к HER2DII-Fc с впадиной LALA

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
72	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKASTKGPSVFQVEQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGL EWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARNLGPSTFYFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQK SLSLSPGK	V _L к HER2DIV- Fab к HER2DII-Fc с впадиной
73	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKASTKGPSVFQVEQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLE WVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSVMSVHEALHNHYTQ KSLSLSPGK	V _L к HER2DII-Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA
74	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKASTKGPSVFQVEQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLE WVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTPPVLD DGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSVMSVHEALHNHYTQK SLSLSPGK	V _L к HER2DII-Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
75	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKASTKGPSVFQVEQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTNIDKTYIHWRQAPGKGLE WVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK	V _L к HER2DII-Fab к HER2DIV- Fc с выступом LALA
76	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKASTKGPSVFQVEQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTNIDKTYIHWRQAPGKGLE WVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	V _L к HER2DII-Fab к HER2DIV- Fc с впадиной LALA
77	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKASTKGPSVFQVEQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTNIDKTYIHWRQAPGKGLE WVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNS LRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	V _L к HER2DII-Fab к HER2DIV- Fc с впадиной

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
78	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIDIQMTQ SPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKL LIYSASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPPREKAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC	V _L κ HER2DIV- LC Fab κ HER2DII
79	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIDIQMTQ SPSSLSASVGDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK LLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPPREKAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC	V _L κ HER2DII-LC Fab κ HER2DIV
80	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLV VSSRTVAAPSVFIDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQD VSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSPRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREKAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	V _H κ HER2DIV- LC Fab κ HER2DII
81	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFVFTDFTMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLLV VSSRTVAAPSVFIDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQD VNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG TDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREKAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	V _H κ HER2DII-LC Fab κ HER2DIV

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
82	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTN GYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVY YCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA-V _H к HER2DIV
83	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA-V _H к HER2DIV
84	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRA EDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA-V _H к HER2DIV

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
85	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEW VARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DII-Fc с выступом LALA-VH к HER2DIV
86	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNG YTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYY CSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DII-Fc с впадиной LALA-VH к HER2DIV
87	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNG YTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYY CSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DII-Fc с впадиной- VH к HER2DIV

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
88	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DII-Fc с впадиной LALA-V _H к HER2DIV
89	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGSGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA-V _H к HER2DII
90	VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGSGGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA-V _H к HER2DII

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
91	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTP PVLDSGDSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA-VH к HER2DII
92	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLE WVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DIV-Fc с выступом LALA-VH к HER2DII
93	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DIV-Fc с впадиной LALA-VH к HER2DII

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
94	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEW VADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARNLGPSTFYFDYWGQGTLLVTVSS	Fab к HER2DIV-Fc с впадиной- VH к HER2DII
95	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSTFYFDYWGQGTLLV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG DRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYS GVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTF GQGTKVEIK	Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA-VL к HER2DIV
96	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSTFYFDYWGQGTLLV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSS LSASVGDRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQH YTTPPTFGQGTKVEIK	Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA-VL к HER2DIV

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
97	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTP PVLDSGDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQH YTTTPPTFGQGTKVEIK	Fab к HER2DII- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA-VL к HER2DIV
98	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYTTTPPTFGQGTKVEIK	Fab к HER2DII-Fc с выступом LALA-VL к HER2DIV
99	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSG VPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTTPPTFG QGTKVEIK	Fab к HER2DII-Fc с впадиной LALA-VL к HER2DIV

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
100	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSG VPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFG QGTKVEIK	Fab к HER2DII-Fc с впадиной- VL к HER2DIV
101	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYS ASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQH YTPPTFGQGTKVEIK	Fab к HER2DII-Fc с впадиной LALA-VL к HER2DIV
102	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTT PPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCKASQDVSIQVAVYQQKPGKAPKLLIYSASYRYT GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF QGTKVEIK	Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с выступом LALA-VL к HER2DII

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
103	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEWSNYKTTTP PVLDSGDSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFCSSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG DRVITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYT GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTF GQGTKVEIK	Fab к HER2DIV- CH3C.35.23. 4 с впадиной LALA-VL к HER2DII
104	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASV GDRVITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRY TGVPFSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYT FGQGTKVEIK	Fab к HER2DIV-Fc с выступом LALA-VL к HER2DII
105	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD RVITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTG VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFG QGTKVEIK	Fab к HER2DIV-Fc с впадиной LALA-VL к HER2DII

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
106	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFLLVSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIK	Fab к HER2DIV-Fc с впадиной-V _L к HER2DII
107	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFLLVSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIK	Fab к HER2DIV-Fc с впадиной LALA-V _L к HER2DII
108	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLLTVSS	Область V _H к HER2DII
109	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSS	Область V _H к HER2DIV
110	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIK	Область V _L к HER2DII
111	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK	Область V _L к HER2DIV
112	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKCLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLLTVSS	Область V _H к HER2DII_от Gly до Cys

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
113	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKCLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLV VSS	Область V _H к HER2DIV_от Gly до Cys
114	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQYYIYPYTFGCGTKVEIK	Область V _L к HER2DII_от Gln до Cys
115	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPED FATYYCQQHYTTPPTFGCGTKVEIK	Область V _L к HER2DIV_от Gln до Cys
116	GGSGGGSGGGSGGGSGGGSG (GGSG) ₅	линкер
117	GGGGS (G ₄ S)	линкер
118	GGGSGGGGS ((G ₄ S) ₂)	линкер
119	GGGSGGGGS ((G ₄ S) ₃)	линкер
120	GGGSGGGGS ((G ₄ S) ₂ -G ₄)	линкер
121	GGGSGGGSGG	линкер
122	GGGGSGGGGS	линкер
123	GGGGSGGGGGSGGGGS	линкер
124	GGGGSEPKSS	линкер
125	ASTKGPSVF	линкер
126	RTVAAPSVFI	линкер
127	EPKSCDKTHTCPPCP	шарнирная область IgG1 человека
128	DKTHTCPPCP	Частичная шарнирная область
129	EPKSSDKTHTCPPCP	Шарнирная область с мутацией Cys в Ser
130	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последова тельность Fc человека дикого типа положения 231-447 согласно нумерации по индексу EU
131	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последова тельность Fc с мутацией типа «выступ»

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
132	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями типа «выступ» и LALA
133	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями типа «впадина»
134	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями типа «впадина» и LALA
135	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEW SNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4
136	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTE WSNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутацией типа «выступ»
137	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTE WSNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «выступ» и LALA
138	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEW SNYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина»
139	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEW SNYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFVFSCSV HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадина» и LALA

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
140	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESYGTEW ANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23. 2
141	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTE WANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23. 2 с мутацией типа «выступ»
142	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGTE WANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23. 2 с мутациями типа «выступ» и LALA
143	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEW ANYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23. 2 с мутациями типа «впадина»
144	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESYGTEW ANYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23. 2 с мутациями типа «впадина» и LALA
145	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEW SSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20. 1
146	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEW SSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20. 1 с мутацией типа «выступ»

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
147	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEW SSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20. 1 с мутациями типа «выступ» и LALA
148	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEW SSYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20. 1 с мутациями типа «впадина»
149	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEW SSYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20. 1 с мутациями типа «впадина» и LALA
150	MMDQARSASFNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDN SHVEMK LAVDEEENADNNTKANVT KPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIG FMIGYLYGCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGEDFPAAR RLYWDDLKRKLSEKLDSTDFGTGKLLNENSYVPREAGSQ KDENLALYVENQFREFKLSKVWRDQHFVKIQVKDSAQNS VIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFG TKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGV LIYMDQTKFPIVNAEL SFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQ FPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDS TCRMVTSESKNVKLT VSNVLKEIKLNIFGVKGFVEPDHY VVVGAQRDAWGPGAAGSGVGTALLKLAQMFSDMVLK DGFQPSRSIIFASWSAGDFGSVGATEWLEGYLSSLHLKAFT YINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQ FLYQDSNWASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCED TDYPYLGT TMDTYKELIERIPELNKVARAAAEVAGQFVIK LTHDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLNQYRADIKEMGLSL QWLYSARGDFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDRV MRVEYHFLSPYVSPKESPF RHVFWGSGSHTLPALLENLKL RKQNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDID NEF	Белок 1 трансферрин ового рецептора человека (TFR1)
151	GGSG	Линкер
152	GSGG	Линкер
153	SGGG	Линкер

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
154	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Fab к HER2DIV- последовательность человеческого Fc дикого типа
155	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	Fab к HER2DII- последовательность Fc дикого типа
156	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQ APGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVT VSSGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTG VPSRFGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQYYIYPYTFG QGTKVEIKGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRY ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	scFv к HER2DII-Fab к HER2DIV- Fc с впадиной

SEQ ID NO	Последовательность	Описание
157	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSDGSSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRTG VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYYIYPYTFG QGTKVEIKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVA DVNPNSSGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS	Fab к HER2DIV-Fc с впадиной- scFv к HER2DII (V_L-V_H scFv)
158	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSDGSSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSA SYRYTGVPFSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYY IYPYTFGQGTKVEIK	Fab к HER2DIV-Fc с впадиной- V_L к HER2DII

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Белок, содержащий:
 - (a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab;
 - (b) второй полипептид Fc, слитый на N-конце с одноцепочечным вариабельным фрагментом (scFv), причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и
 - (c) полипептид легкой цепи, который образует пару с Fd-частью, указанной в (a), с образованием Fab,

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека.
2. Белок по п. 1, отличающийся тем, что Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека.
3. Белок по п. 1, отличающийся тем, что Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека.
4. Белок по любому из пп. 1–3, отличающийся тем, что второй полипептид Fc слит с scFv через первый линкер.
5. Белок по п. 4, отличающийся тем, что первый линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот.
6. Белок по 4 или 5, отличающийся тем, что первый линкер содержит последовательность GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 118).
7. Белок по любому из пп. 1–6, отличающийся тем, что scFv содержит область V_L и область V_H, соединенные через второй линкер.
8. Белок по п. 7, отличающийся тем, что второй линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот.
9. Белок по п. 7 или п. 8, отличающийся тем, что второй линкер содержит любую последовательность из GGS GGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GGSG)₅), GGGGS (SEQ ID NO:117; G₄S), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:118; (G₄S)₂), GGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:119; (G₄S)₃), GGGGSGGGSGGGG (SEQ ID NO:120; (G₄S)₂-G₄), GGGGSGGGSGG (SEQ ID NO:121), GGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:123).
10. Белок по любому из пп. 1–9, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc специфически связывается с трансферриновым рецептором.
11. Белок по любому из пп. 1–10, отличающийся тем, что каждый из первого

полипептида Fc и второго полипептида Fc содержит модификации, которые способствуют гетеродимеризации. 12. Белок по п. 11, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит замену T366W, а второй полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU.

13. Белок по п. 11, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит замену T366W в соответствии с нумерацией EU.

14. Белок по любому из пп. 1–13, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат модификации, снижающие эффекторную функцию.

15. Белок по п. 14, отличающийся тем, что модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU.

16. Белок по любому из пп. 1–15, отличающийся тем, что шарнирная область или ее часть связаны с N-концом первого полипептида Fc и/или второго полипептида Fc.

17. Белок по любому из пп. 1–16, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 131–149.

18. Белок по любому из пп. 1–17, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 135–139.

19. Белок по любому из пп. 1–18, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 135–139.

20. Белок по любому из пп. 1–19, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 137, и

второй полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133.

21. Белок по любому из пп. 1–19, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133, и

второй полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 137.

22. Белок по любому из пп. 1–21, отличающийся тем, что:

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:21, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:20, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:19, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(iv) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:18, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(v) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90%

идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:15 или 17, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(vi) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:14, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(vii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:13, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(viii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:11 или 12, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(ix) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:22, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(x) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:5, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:18, и (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25.

23. Белок по п. 22, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU.

24. Белок по п.22 или п. 23, отличающийся тем, что второй полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU.

25. Белок, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой Fd-частью, указанной в (a) и (b), с образованием Fab;

причем первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc слиты на C-конце с scFv, или

при этом Fd-часть в (a) и/или (b) слита на N-конце с scFv, или

при этом первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слит на C-конце с scFv, а Fd-часть в (a) или (b) слита на N-конце с scFv, и

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека.

26. Белок по п. 25, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc слиты на C-конце с scFv.

27. Белок по п. 25, отличающийся тем, что Fd-часть в (a) и/или (b) слита на N-конце с scFv.

28. Белок по п. 25, отличающийся тем, что первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слит на C-конце с scFv, а Fd-часть в (a) или (b) слита на N-конце с scFv.

29. Белок по любому из пп. 25–28, отличающийся тем, что Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека.

30. Белок по любому из пп. 25–28, отличающийся тем, что Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека.

31. Белок по любому из пп. 25–30, отличающийся тем, что scFv, слитый с первым полипептидом Fc и/или вторым полипептидом Fc, содержит идентичные последовательности.

32. Белок по любому из пп. 25–30, отличающийся тем, что scFv, слитый с Fd-частью в (a) и/или (b), содержит идентичные последовательности.

33. Белок по любому из пп. 25–32, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc слит с scFv через первый линкер.

34. Белок по любому из пп. 25–33, отличающийся тем, что Fd-часть в (a) и/или (b) слита с scFv через первый линкер.

35. Белок по п. 33 или п. 34, отличающийся тем, что первый линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот.

36. Белок по любому из пп. 33–35, отличающийся тем, что первый линкер содержит любую последовательность из GGSGGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116;

(GGSG)₅), GGGGS (SEQ ID NO:117; G₄S), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:118; (G₄S)₂), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:119; (G₄S)₃), GGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO:120; (G₄S)₂-G₄), GGGGSGGGGSGG (SEQ ID NO:121), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:123).

37. Белок по любому из пп. 25–36, отличающийся тем, что scFv содержит область V_L и область V_H, соединенные через второй линкер.

38. Белок по п. 37, отличающийся тем, что второй линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот.

39. Белок по п. 37 или 38, отличающийся тем, что второй линкер содержит любую последовательность из GGS GGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GGSG)₅), GGGGS (SEQ ID NO:117; G₄S), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:118; (G₄S)₂), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:119; (G₄S)₃), GGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO:120; (G₄S)₂-G₄), GGGGSGGGGSGG (SEQ ID NO:121), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:123).

40. Белок по любому из пп. 25–39, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc специфически связывается с трансферриновым рецептором.

41. Белок по любому из пп. 25–40, отличающийся тем, что каждый из первого полипептида Fc и второго полипептида Fc содержит модификации, которые способствуют гетеродимеризации. 42. Белок по п. 41, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит замену T366W, а второй полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU.

42. Белок по п. 41, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит замену T366S, а второй полипептид Fc содержит замены T366W, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU.

43. Белок по п. 41, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит замену T366W в соответствии с нумерацией EU.

44. Белок по любому из пп. 25–43, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат модификации, снижающие эффекторную функцию.

45. Белок по п. 44, отличающийся тем, что модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU.

46. Белок по любому из пп. 25–45, отличающийся тем, что шарнирная область

или ее часть связаны с N-концом первого полипептида Fc и/или второго полипептида Fc.

47. Белок по любому из пп. 25–46, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 131–149.

48. Белок по любому из пп. 25–47, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 135–139.

49. Белок по любому из пп. 25–48, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO:135–139.

50. Белок по любому из пп. 25–49, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 137, и

второй полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133.

51. Белок по любому из пп. 25–49, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133, и

второй полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 137.

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 40, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 43, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:41, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 42, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:45, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 49, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(iv) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:47, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 48, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(v) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:45, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 50, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(vi) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:46, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 156, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

56. Белок по любому из пп. 25–51, отличающийся тем, что первый полипептид Fc или второй полипептид Fc слит на C-конце с scFv, а Fd-часть в (a) или (b) слита на N-конце к scFv, и при этом:

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 40, (b) содержит последовательность,

(viii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:49, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 33 или 34, и каждый из двух полипептидов легкой цепи в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

57. Белок по любому из пп. 52–56, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU.

58. Белок по любому из пп. 52–57, отличающийся тем, что второй полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU.

59. Белок, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab;
 (b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой Fd-частью, указанной в (a) и (b), с образованием Fab;

причем один или оба полипептида легкой цепи слиты на N-конце с scFv, или при этом один или оба полипептида легкой цепи слиты на C-конце с scFv, или при этом первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv, а второй полипептид легкой цепи слит на C-конце с scFv, и

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека.

60. Белок по п. 59, отличающийся тем, что один или оба полипептида легкой цепи слиты на N-конце с scFv.

61. Белок по п. 59, отличающийся тем, что один или оба полипептида легкой цепи слиты на C-конце с scFv.

62. Белок по п. 59, отличающийся тем, что первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv, а второй полипептид легкой цепи слит на C-конце с scFv.

63. Белок по любому из пп. 59–62, отличающийся тем, что Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом IV HER2 человека.

64. Белок по любому из пп. 59–62, отличающийся тем, что Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а scFv связывается с субдоменом II HER2 человека.

65. Белок по любому из пп. 59–64, отличающийся тем, что scFv, слитый с одним или обоими полипептидами легкой цепи, содержит идентичные последовательности.

66. Белок по любому из пп. 59–65, отличающийся тем, что один или оба

полипептида легкой цепи слиты с scFv через первый линкер.

67. Белок по п. 66, отличающийся тем, что первый линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот.

68. Белок по п. 66 или п. 67, отличающийся тем, что первый линкер содержит любую последовательность из GGSGGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GGSG)₅), GGGGS (SEQ ID NO:117; G₄S), GGGGSGGGS (SEQ ID NO:118; (G₄S)₂), GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:119; (G₄S)₃), GGGSGGGSGGGG (SEQ ID NO:120; (G₄S)₂-G₄), GGGSGGGSGG (SEQ ID NO:121), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGSGGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:123).

69. Белок по любому из пп. 59–68, отличающийся тем, что scFv содержит область V_L и область V_H, соединенные через второй линкер.

70. Белок по п. 69, отличающийся тем, что второй линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот.

71. Белок по п. 69 или п. 70, отличающийся тем, что второй линкер содержит любую последовательность из GGSGGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GGSG)₅), GGGGS (SEQ ID NO:117; G₄S), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:118; (G₄S)₂), GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:119; (G₄S)₃), GGGSGGGSGGGG (SEQ ID NO:120; (G₄S)₂-G₄), GGGSGGGSGG (SEQ ID NO:121), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGSGGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:123).

72. Белок по любому из пп. 59–71, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc специфически связывается с трансферриновым рецептором.

73. Белок по любому из пп. 59–72, отличающийся тем, что каждый из первого полипептида Fc и второго полипептида Fc содержит модификации, которые способствуют гетеродимеризации. 74. Белок по п. 73, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит замену T366W, а второй полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU.

75. Белок по п. 73, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит замену T366W в соответствии с нумерацией EU.

76. Белок по любому из пп. 59–75, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат модификации, снижающие эффекторную функцию.

77. Белок по п. 76, отличающийся тем, что модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с

нумерацией EU.

78. Белок по любому из пп. 59–77, отличающийся тем, что шарнирная область или ее часть связаны с N-концом первого полипептида Fc и/или второго полипептида Fc.

79. Белок по любому из пп. 59–78, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 131–149.

80. Белок по любому из пп. 59–79, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 135–139.

81. Белок по любому из пп. 59–80, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 135–139.

82. Белок по любому из пп. 59–81, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 137, и

второй полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 133.

83. Белок по любому из пп. 59–81, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 133, и

второй полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с

последовательностью SEQ ID NO: 137.

84. Белок по любому из пп. 59–83, отличающийся тем, что:

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4, первый полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 52, а второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, первый полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 52, а второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9, первый полипептид с легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 53 или 54, а второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(iv) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, первый полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 53 или 54, а второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

85. Бѣлокъ по любому изъ пп. 59–83, отличающійся темъ, что:

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит

последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:52; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:52; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:53 или 54; или

(iv) (a) содержит последовательность по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:53 или 54.

86. Белок по любому из пп. 59–83, отличающийся тем, что:

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 55, а второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 55, а второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9, первый полипептид с легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 56 или 57, а второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(iv) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 56 или 57, а второй полипептид легкой цепи содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

87. Белок по любому из пп. 59–83, отличающийся тем, что:

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на C-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:56 или 57; или

(iv) (a) содержит последовательность по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по

меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:56 или 57.

88. Белок по любому из пп. 59–83, отличающийся тем, что:

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:1, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:4, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55, а второй полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:52; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:2, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:3, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:55, а второй полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:52; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:6, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:9, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:56 или 57, а второй полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:53 или 54, содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(iv) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:7, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:8, первый полипептид легкой цепи слит на N-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:56 или

57, а второй полипептид легкой цепи слит на С-конце с scFv и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:53 или 54, и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

89. Белок по любому из пп. 84–88, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU.

90. Белок по любому из пп. 84–88, отличающийся тем, что второй полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU.

91. Белок, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, слитый на N-конце с Fd-частью Fab;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой Fd-частью, указанной в (a) и (b), с образованием Fab;

причем каждая из Fd-частей в (a) и (b) слита на N-конце с областью V_H или областью V_L фрагмента Fv, и

при этом каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с другой областью V_H или областью V_L фрагмента Fv, и

при этом область V_H и область V_L вместе образуют фрагмент Fv, и

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом II HER2 человека.

92. Белок по п. 91, отличающийся тем, что Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом IV HER2 человека.

93. Белок по п. 91, отличающийся тем, что Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом II HER2 человека.

94. Белок по любому из пп. 91–93, отличающийся тем, что каждая из Fd-частей в (a) и (b) слита на N-конце с областью V_H или областью V_L через первый линкер.

95. Белок по п. 94, отличающийся тем, что первый линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот.

96. Белок по п. 94 или п. 95, отличающийся тем, что первый линкер содержит последовательность ASTKGPSVF (SEQ ID NO:125).

97. Белок по любому из пп. 91–96, отличающийся тем, что каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с областью V_H или областью V_L через второй линкер.

98. Белок по п. 97, отличающийся тем, что второй линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот.

99. Белок по п. 97 или п. 98, отличающийся тем, что второй линкер содержит последовательность RTVAAPSVFI (SEQ ID NO:126).

100. Белок по любому из пп. 91–99, отличающийся тем, что каждая из Fd-частей в (а) и (б) слита на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, и каждый из двух полипептидов легкой цепи слит на N-конце с областью V_L фрагмента Fv.

101. Белок по любому из пп. 91–99, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc специфически связывается с трансферриновым рецептором.

102. Белок по любому из пп. 91–101, отличающийся тем, что каждый из первого полипептида Fc и второго полипептида Fc содержит модификации, которые способствуют гетеродимеризации. 103. Белок по п. 102, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит замену T366W, а второй полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU.

104. Белок по п. 102, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит замену T366W в соответствии с нумерацией EU.

105. Белок по любому из пп. 91–104, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат модификации, снижающие эффекторную функцию.

106. Белок по п. 105, отличающийся тем, что модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU.

107. Белок по любому из пп. 91–106, отличающийся тем, что шарнирная область или ее часть связаны с N-концом первого полипептида Fc и/или второго полипептида Fc.

108. Белок по любому из пп. 91–107, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 131–149.

109. Белок по любому из пп. 91–108, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 135–139.

110. Белок по любому из пп. 91–109, отличающийся тем, что первый полипептид

Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO:135–139.

111. Белок по любому из пп. 91–110, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 137, и

второй полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133.

112. Белок по любому из пп. 91–110, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133, и

второй полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 137.

113. Белок по любому из пп. 91–112, отличающийся тем, что белок содержит:

(i) первый полипептид, содержащий (a), слитую на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:58, второй полипептид, содержащий (b), слитую на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 61, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_L фрагмента Fv, и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:78; или

(ii) первый полипептид, содержащий (a), слитую на N-конце с областью V_H фрагмента Fv, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с

последовательностью SEQ ID NO:59, второй полипептид, содержащий (b), слитую на N-конце с областью V_H фрагмента F_V, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 60, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_L фрагмента F_V, и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:78; или

(iii) первый полипептид, содержащий (a), слитую на N-конце с областью V_H фрагмента F_V, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:63, второй полипептид, содержащий (b), слитую на N-конце с областью V_H фрагмента F_V, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 66, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_L фрагмента F_V, и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:79; или

(iv) первый полипептид, содержащий (a), слитую на N-конце с областью V_H фрагмента F_V, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:64, второй полипептид, содержащий (b), слитую на N-конце с областью V_H фрагмента F_V, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 65, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_L фрагмента F_V, и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:79; или

(v) первый полипептид, содержащий (a), слитую на N-конце с областью V_H фрагмента F_V, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:63, второй полипептид, содержащий (b), слитую на N-конце с областью V_H фрагмента F_V, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 67, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_L фрагмента F_V, и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:79.

114. Белок по любому из пп. 91–112, отличающийся тем, что белок содержит:

(i) первый полипептид, содержащий (a), слитую на N-конце с областью V_L фрагмента F_V, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:68, второй полипептид, содержащий (b), слитую на N-конце с областью V_L фрагмента F_V, последовательность, имеющую по меньшей мере 90%

идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 71, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_H фрагмента F_v, и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:80; или

(ii) первый полипептид, содержащий (a), слитую на N-конце с областью V_L фрагмента F_v, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:69, второй полипептид, содержащий (b), слитую на N-конце с областью V_L фрагмента F_v, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 70, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_H фрагмента F_v, и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:80; или

(iii) первый полипептид, содержащий (a), слитую на N-конце с областью V_L фрагмента F_v, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:73, второй полипептид, содержащий (b), слитую на N-конце с областью V_L фрагмента F_v, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 76, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_H фрагмента F_v, и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:81; или

(iv) первый полипептид, содержащий (a), слитую на N-конце с областью V_L фрагмента F_v, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:74, второй полипептид, содержащий (b), слитую на N-конце с областью V_L фрагмента F_v, последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 75, и третий и четвертый полипептиды, каждый из которых содержит полипептид легкой цепи, слитый на N-конце с областью V_H фрагмента F_v, и содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:81.

115. Белок по п. 113, отличающийся тем, что первый полипептид F_c содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU.

116. Белок по п. 113, отличающийся тем, что второй полипептид F_c содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU.

117. Белок, содержащий:

(a) первый полипептид F_c, который слит на N-конце с F_d-частью Fab и слит на C-конце с областью V_H или областью V_L фрагмента F_v;

(b) второй полипептид Fc, который слит на N-конце с Fd-частью Fab и слит на C-конце с другой областью V_H или областью V_L, указанными в (a),

причем область V_H и область V_L вместе образуют фрагмент Fv, и при этом первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc; и

(c) два полипептида легкой цепи, каждый из которых образует пару с каждой Fd-частью, указанной в (a) и (b), с образованием Fab;

причем Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом IV HER2 человека, или при этом Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом II HER2 человека.

118. Белок по п. 117, отличающийся тем, что Fab связывается с субдоменом II HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом IV HER2 человека.

119. Белок по п. 117, отличающийся тем, что Fab связывается с субдоменом IV HER2 человека, а фрагмент Fv связывается с субдоменом II HER2 человека.

120. Белок по любому из пп. 117–119, отличающийся тем, что первый полипептид Fc слит с областью V_H фрагмента Fv, а второй полипептид Fc слит с областью V_L фрагмента Fv.

121. Белок по любому из пп. 117–119, отличающийся тем, что первый полипептид Fc слит с областью V_L фрагмента Fv, а второй полипептид Fc слит с областью V_H фрагмента Fv.

122. Белок по любому из пп. 117–121, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc слиты на C-конце с областью V_H или областью V_L через первый линкер.

123. Белок по п. 122, отличающийся тем, что первый линкер имеет длину от 1 до 20 аминокислот.

124. Белок по п. 122 или п. 123, отличающийся тем, что первый линкер содержит любую последовательность из GGSGGGSGGGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:116; (GGSG)₅), GGGGS (SEQ ID NO:117; G₄S), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:118; (G₄S)₂), GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:119; (G₄S)₃), GGGSGGGSGGGG (SEQ ID NO:120; (G₄S)₂-G₄), GGGSGGGSGG (SEQ ID NO:121), GGGSGGGGS (SEQ ID NO:122) и GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:123).

125. Белок по любому из пп. 117–124, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc специфически связывается с трансферриновым рецептором.

126. Белок по любому из пп. 117–125, отличающийся тем, что каждый из первого полипептида Fc и второго полипептида Fc содержит модификации, которые способствуют

гетеродимеризации.

127. Белок по п. 126, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит замену T366W, а второй полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU.

128. Белок по п. 126, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит замену T366W в соответствии с нумерацией EU.

129. Белок по любому из пп. 117–128, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат модификации, снижающие эффекторную функцию.

130. Белок по п. 129, отличающийся тем, что модификации, снижающие эффекторную функцию, представляют собой замены L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU.

131. Белок по любому из пп. 117–130, отличающийся тем, что шарнирная область или ее часть связаны с N-концом первого полипептида Fc и/или второго полипептида Fc.

132. Белок по любому из пп. 117–131, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 131–149.

133. Белок по любому из пп. 117–132, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 135–139.

134. Белок по любому из пп. 117–133, отличающийся тем, что первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc независимо содержат Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 135–139.

135. Белок по любому из пп. 117–134, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую

по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 137, и

второй полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133.

136. Белок по любому из пп. 117–134, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит Ser в положении 366, Ala в положении 368 и Val в положении 407 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:133, и

второй полипептид Fc содержит Ala в положении 234, Ala в положении 235, Trp в положении 366, Tyr в положении 384, Thr в положении 386, Glu в положении 387, Trp в положении 388, Ser в положении 389, Ser в положении 413, Glu в положении 415, Glu в положении 416 и Phe в положении 421 в соответствии с нумерацией EU, и последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 137.

137. Белок по любому из пп. 117–136, отличающийся тем, что:

(i) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 82 или 83, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 99 или 100, и каждая из двух легких цепей в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(ii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 84, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 98, и каждая из двух легких цепей в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(iii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:85, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 97, и каждая из двух легких цепей в (c) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:25; или

(iv) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 86 или 88, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 95 или 96, и каждая из двух легких цепей в (c)

имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 107, и каждая из двух легких цепей в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26; или

(xii) (a) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:90, (b) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 158, и каждая из двух легких цепей в (с) содержит последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:26.

138. Белок по п. 137, отличающийся тем, что первый полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU.

139. Белок по п. 137, отличающийся тем, что второй полипептид Fc содержит Leu в положениях 234 и 235 в соответствии с нумерацией EU.

140. Фармацевтическая композиция, содержащая белок по любому из пп. 1–139 и фармацевтически приемлемый носитель.

141. Выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую белок по любому из пп. 1–139.

142. Вектор, содержащий полинуклеотид по п. 141.

143. Клетка-хозяин, содержащая полинуклеотид по п. 141 или вектор по п. 142.

144. Способ лечения рака или лечения метастазов в головной мозг при раке у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества белка по любому из пп. 1–139 или фармацевтической композиции по п. 140.

145. Способ по п. 144, отличающийся тем, что белок применяют в комбинации с химиотерапией или лучевой терапией.

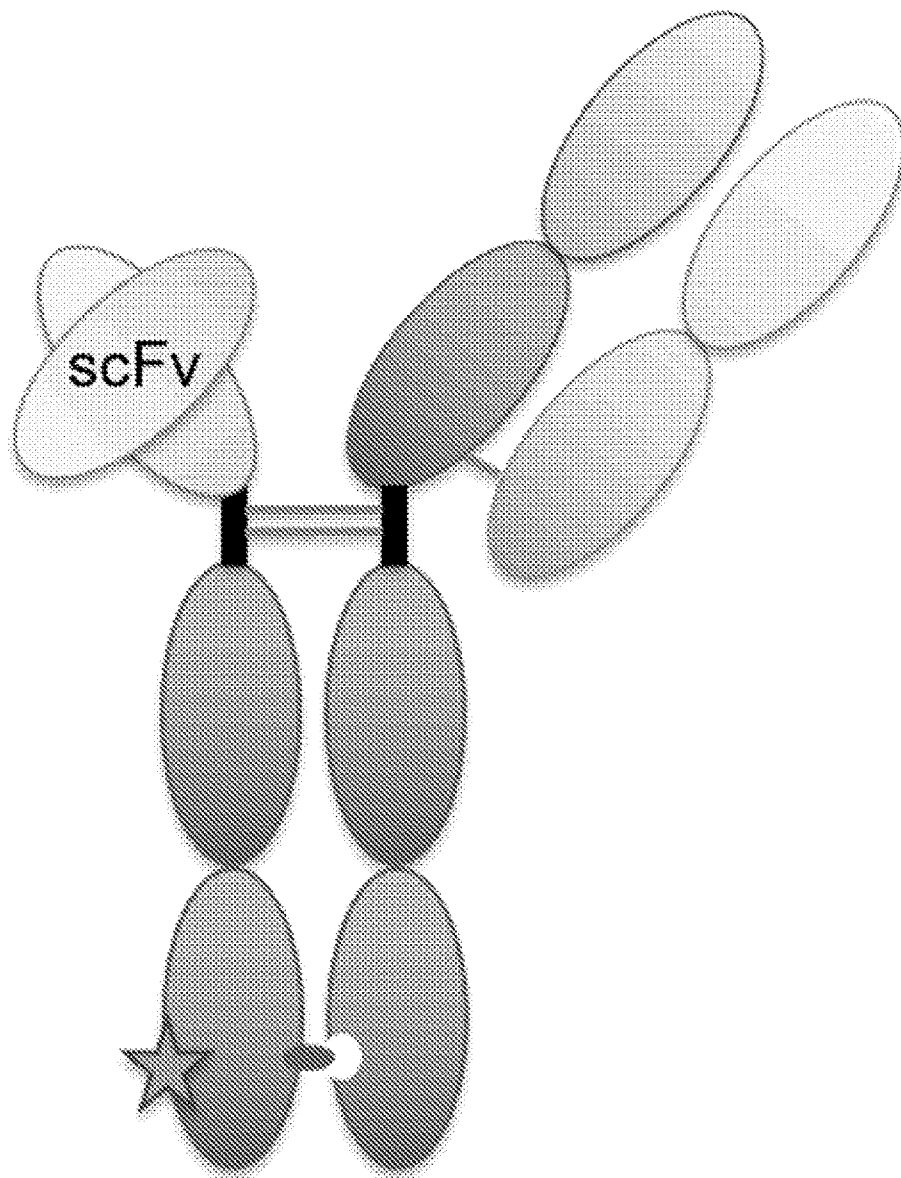
146. Способ по п. 144 или п. 145, отличающийся тем, что рак представляет собой метастатический рак.

147. Способ по любому из пп. 144–146, отличающийся тем, что рак представляет собой рак молочной железы.

148. Способ по любому из пп. 144–147, отличающийся тем, что рак представляет собой HER2-положительный рак.

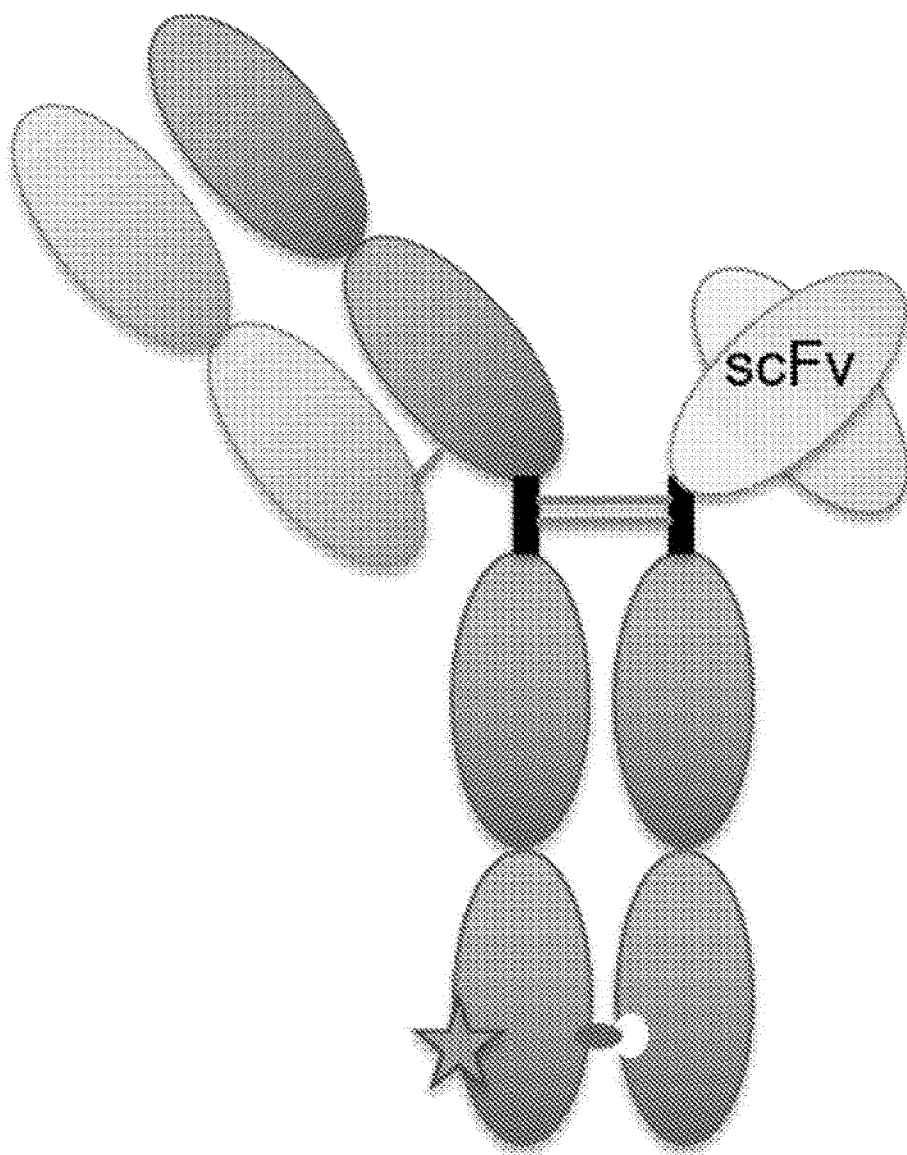
Фиг. 1А

scFv на выступе



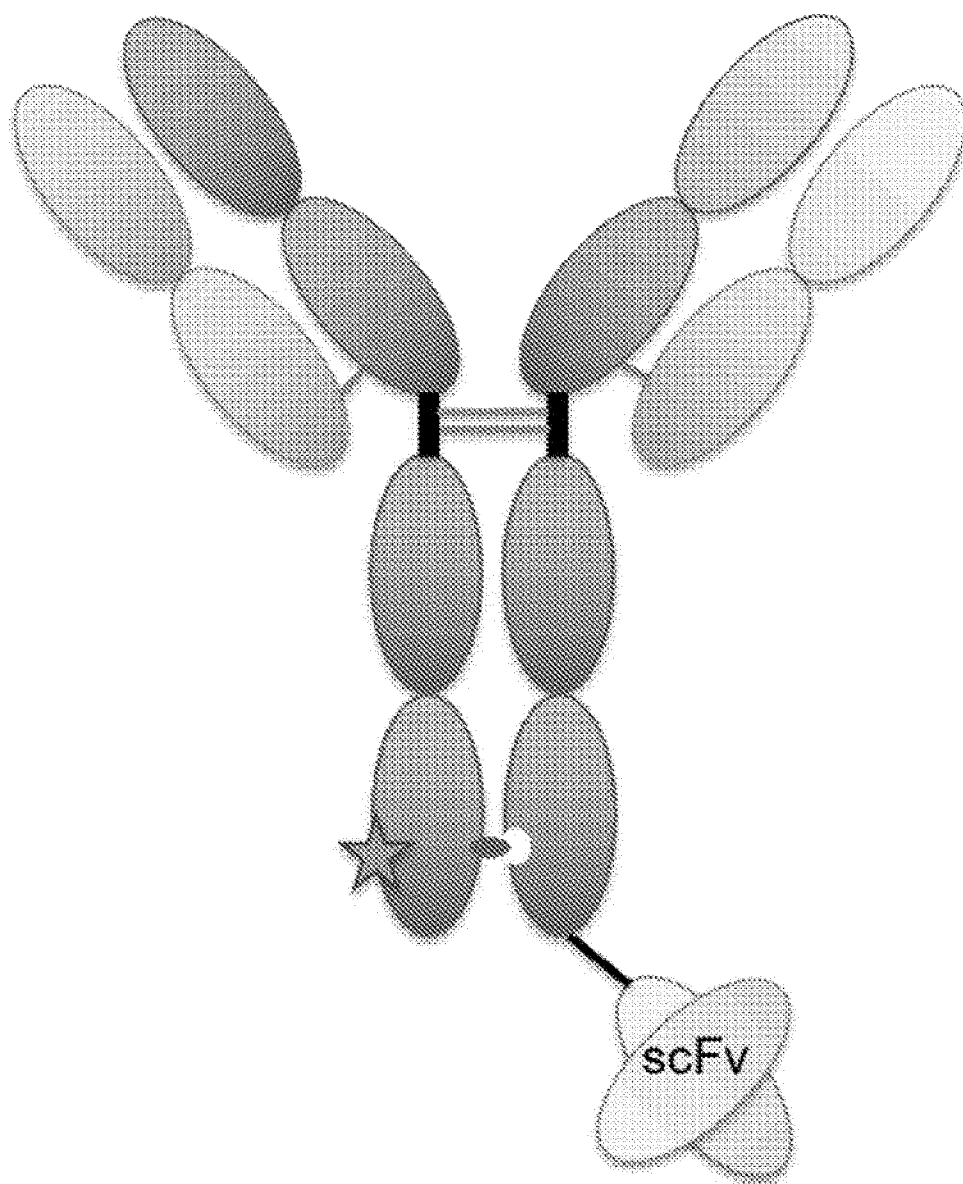
Фиг. 1В

scFv на впадине



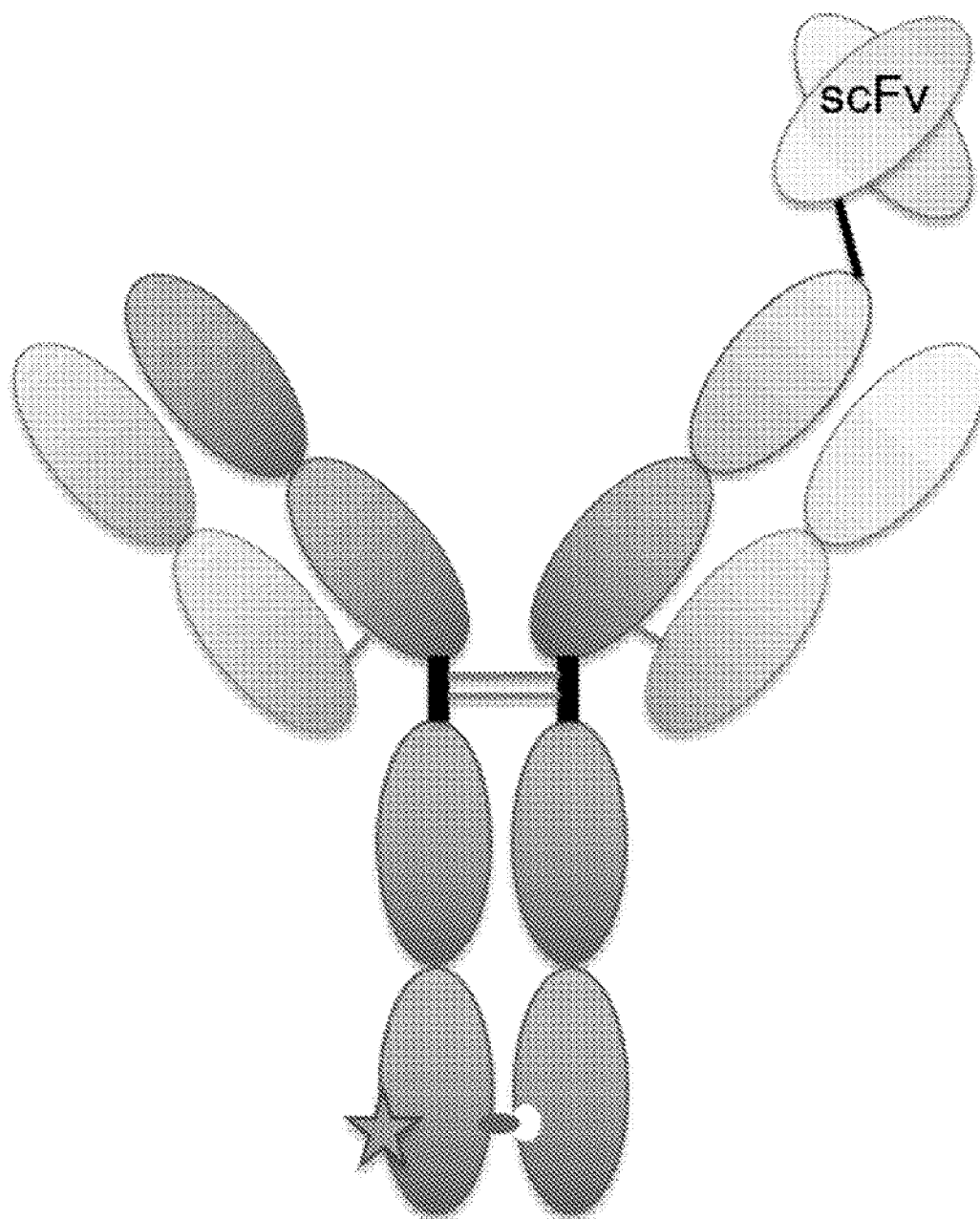
Фиг. 2А

Моновалентный scFv на С-конце НС



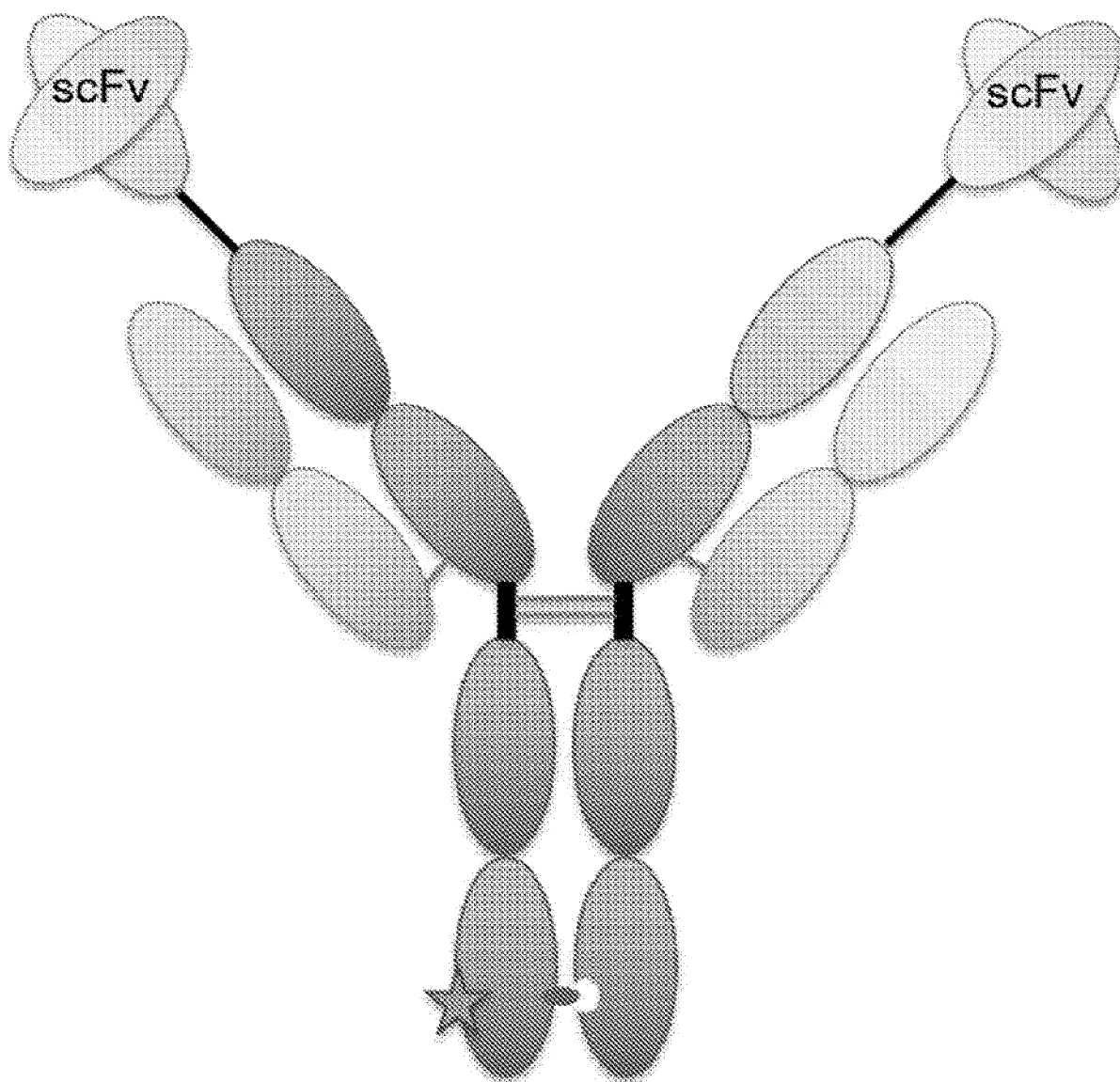
Фиг. 2В

Моновалентный scFv на N-конце НС



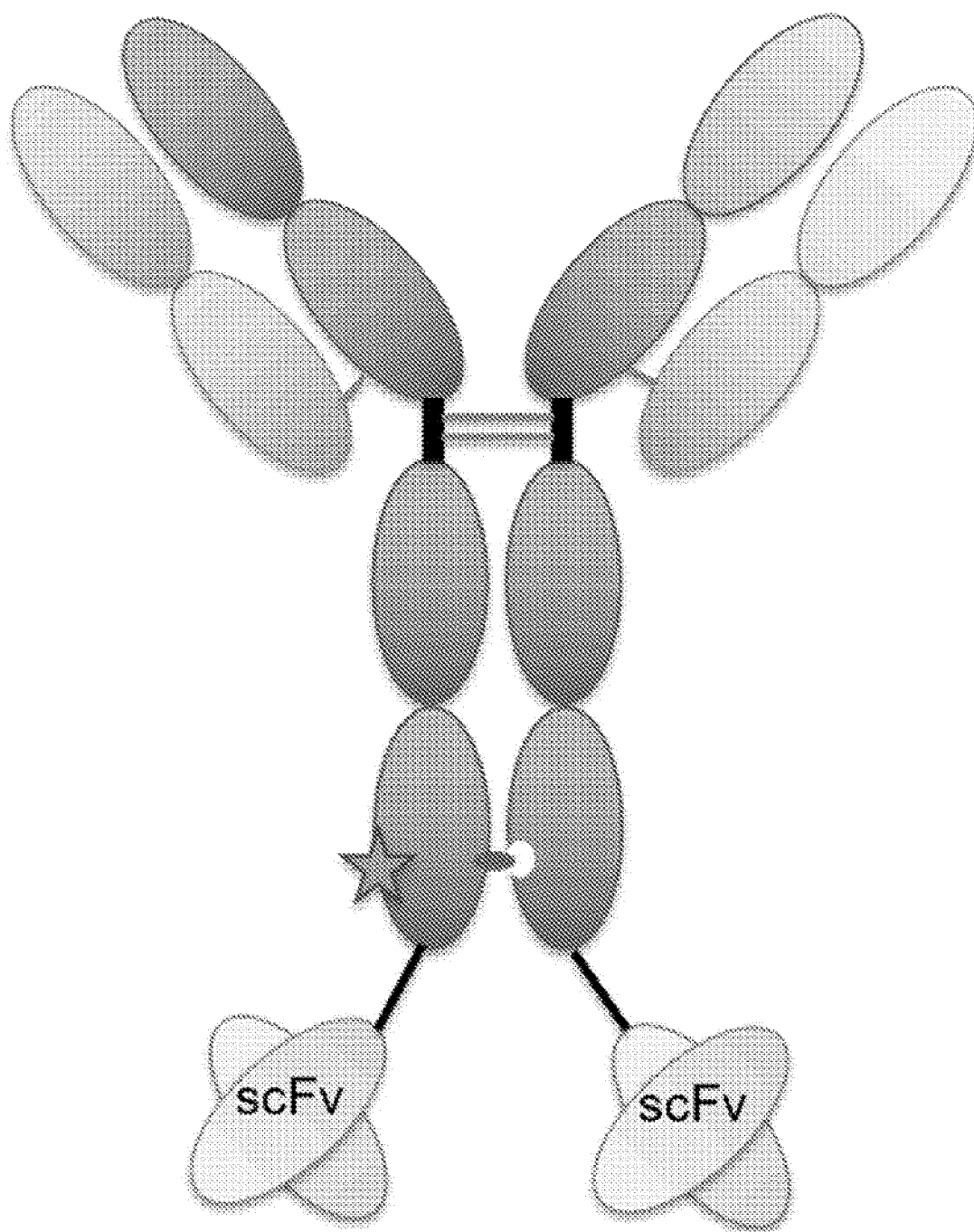
Фиг. 2С

Двухвалентный scFv на N-конце НС



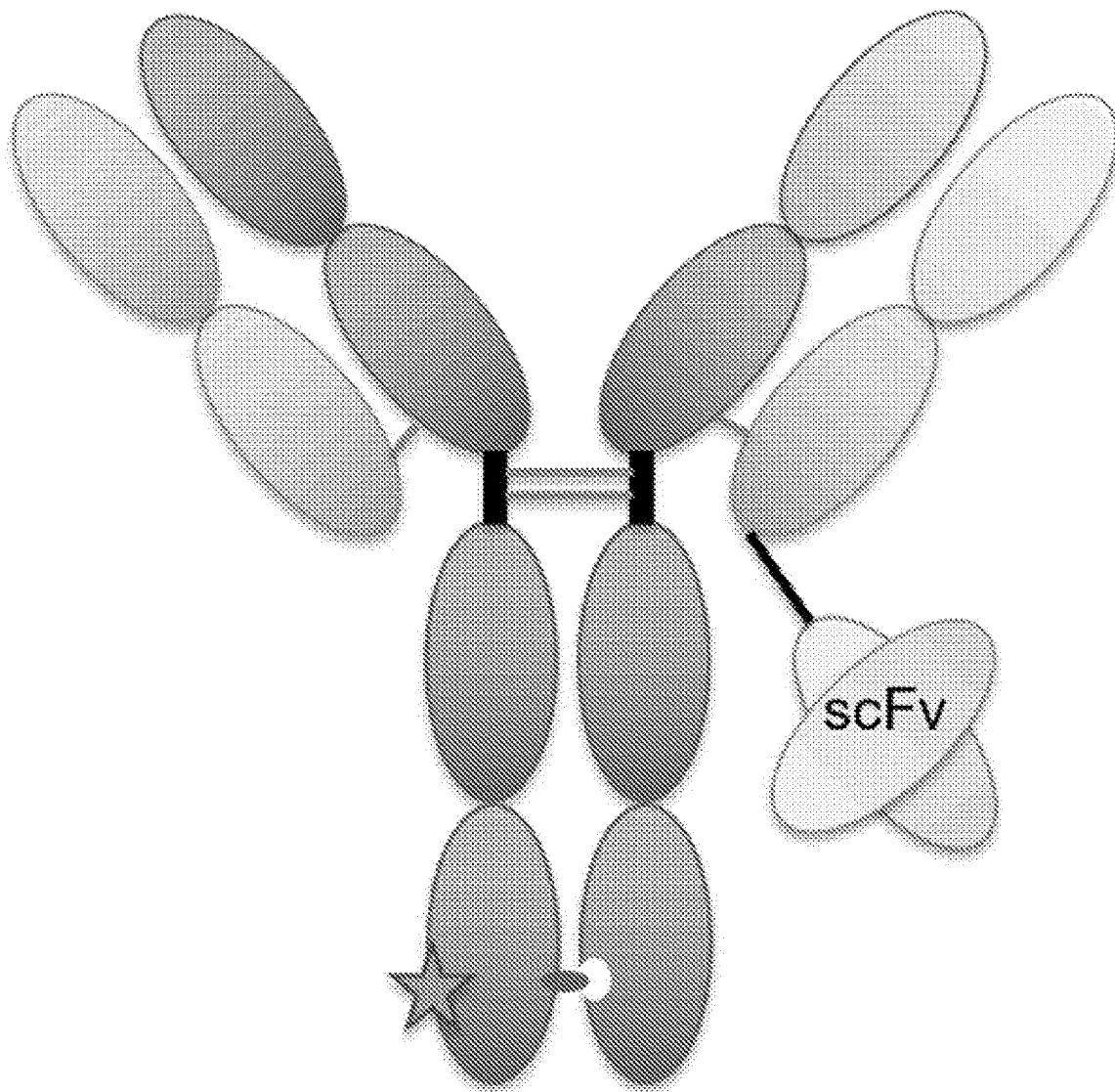
Фиг. 2D

Двухвалентный scFv на С-конце НС



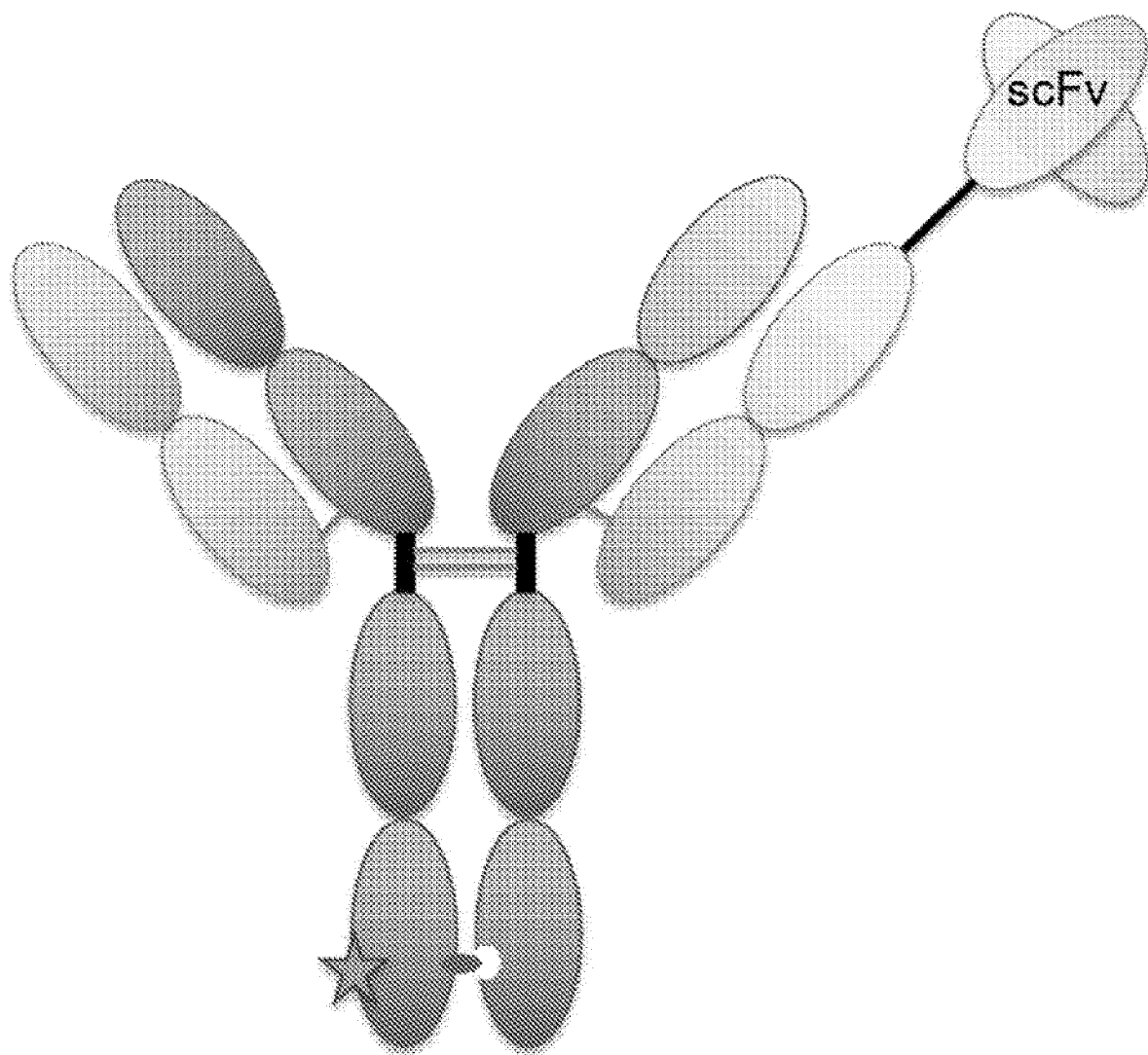
Фиг. 3А

Моновалентный scFv на С-конце LC



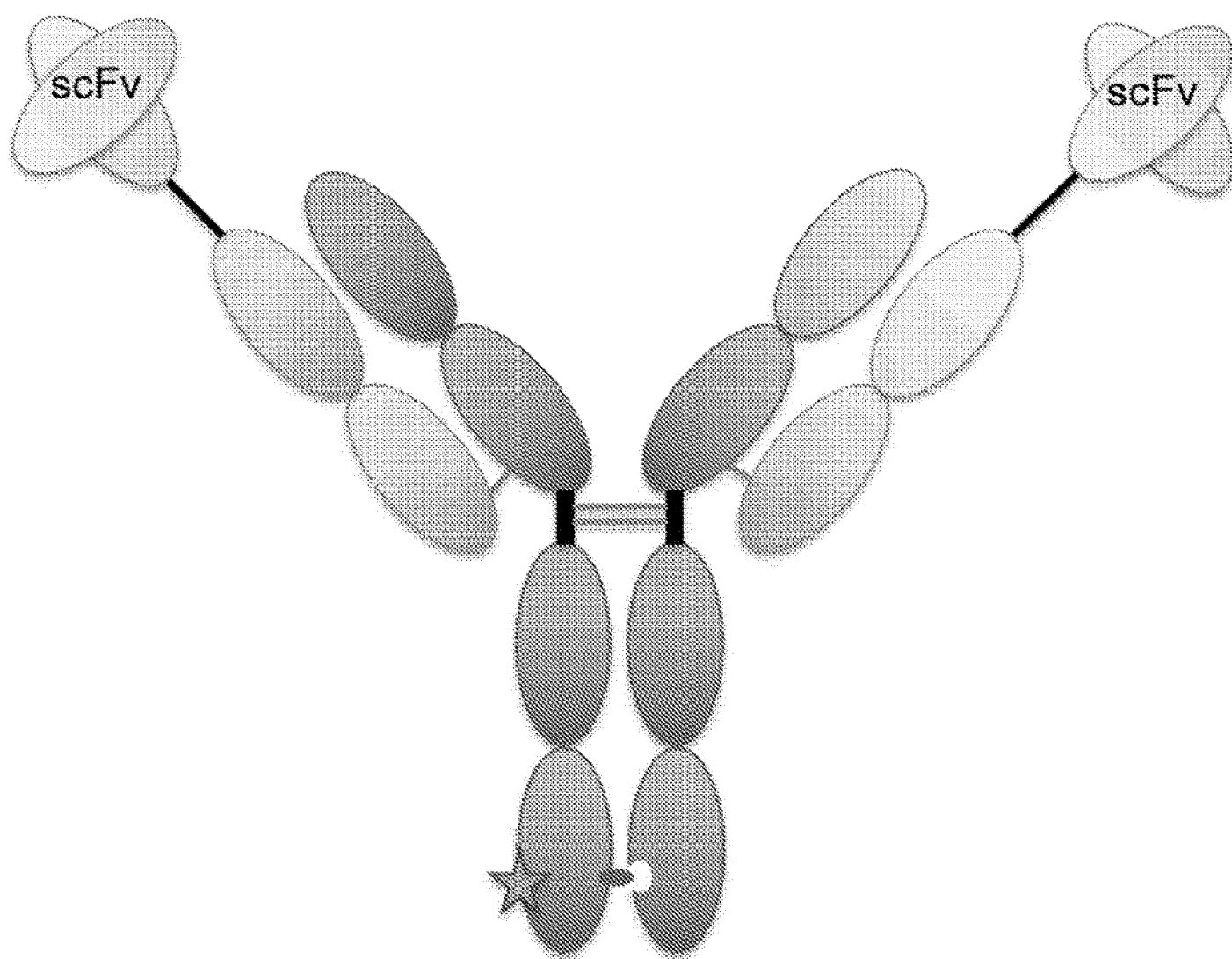
Фиг. 3В

Моновалентный scFv на N-конце LC



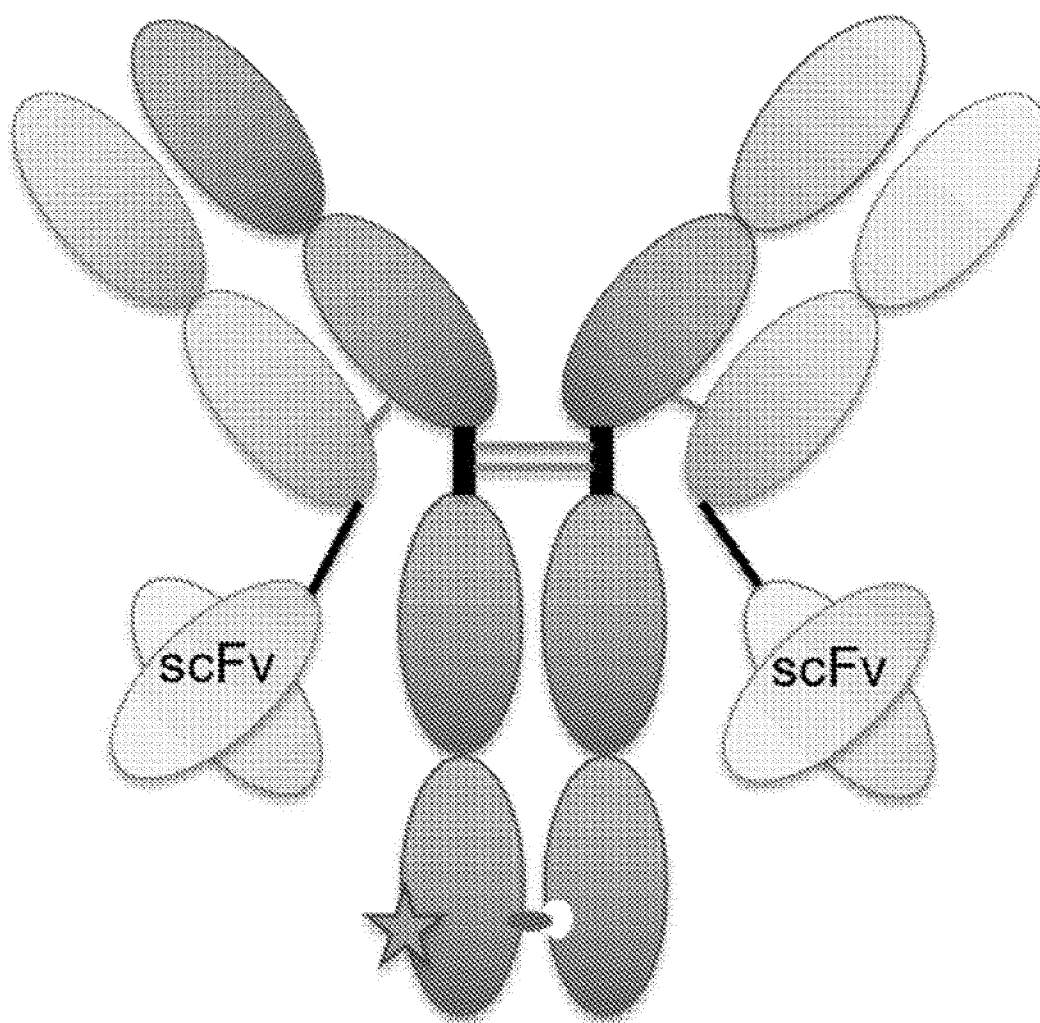
Фиг. 3С

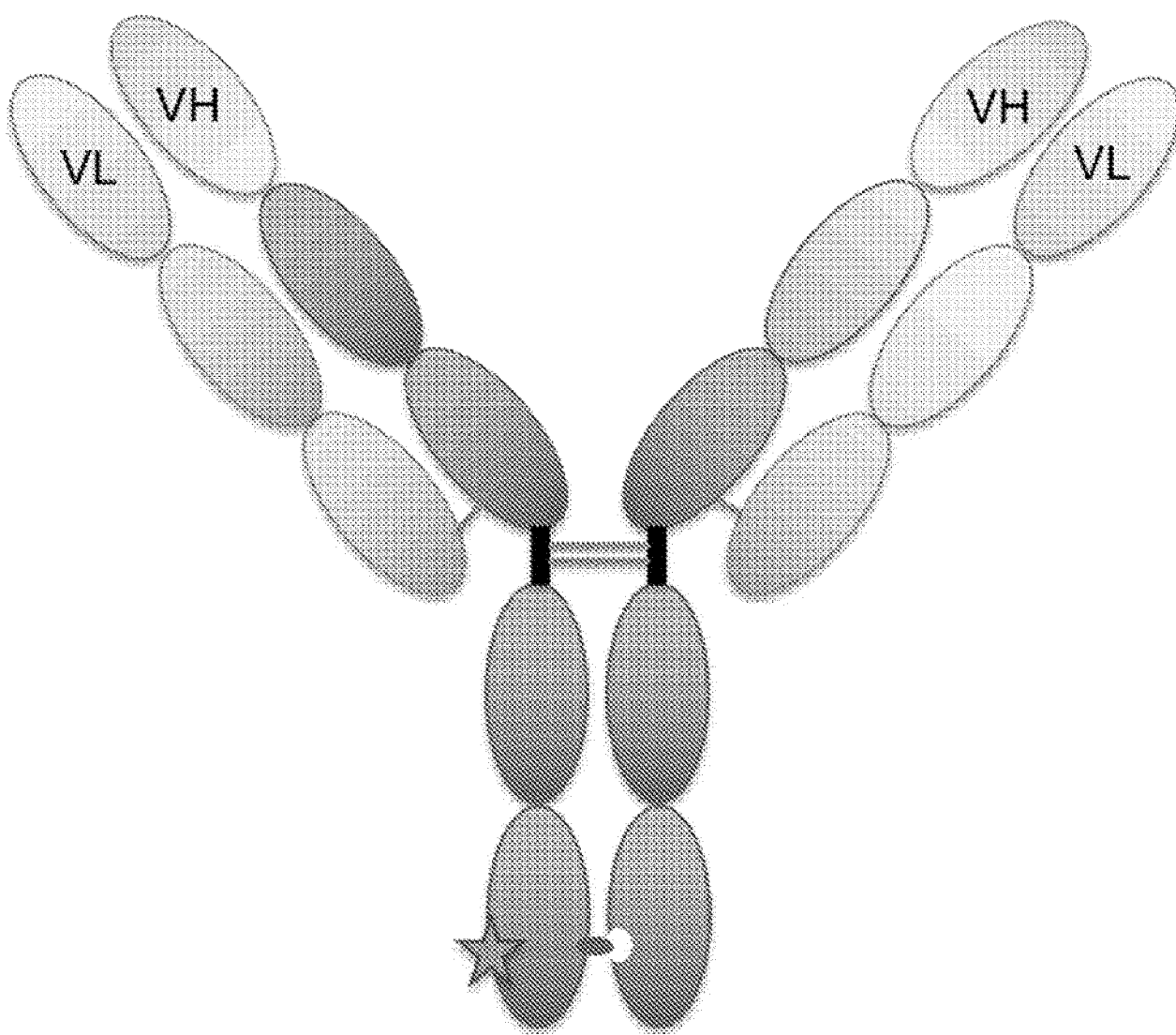
Двухвалентный scFv на N-конце LC



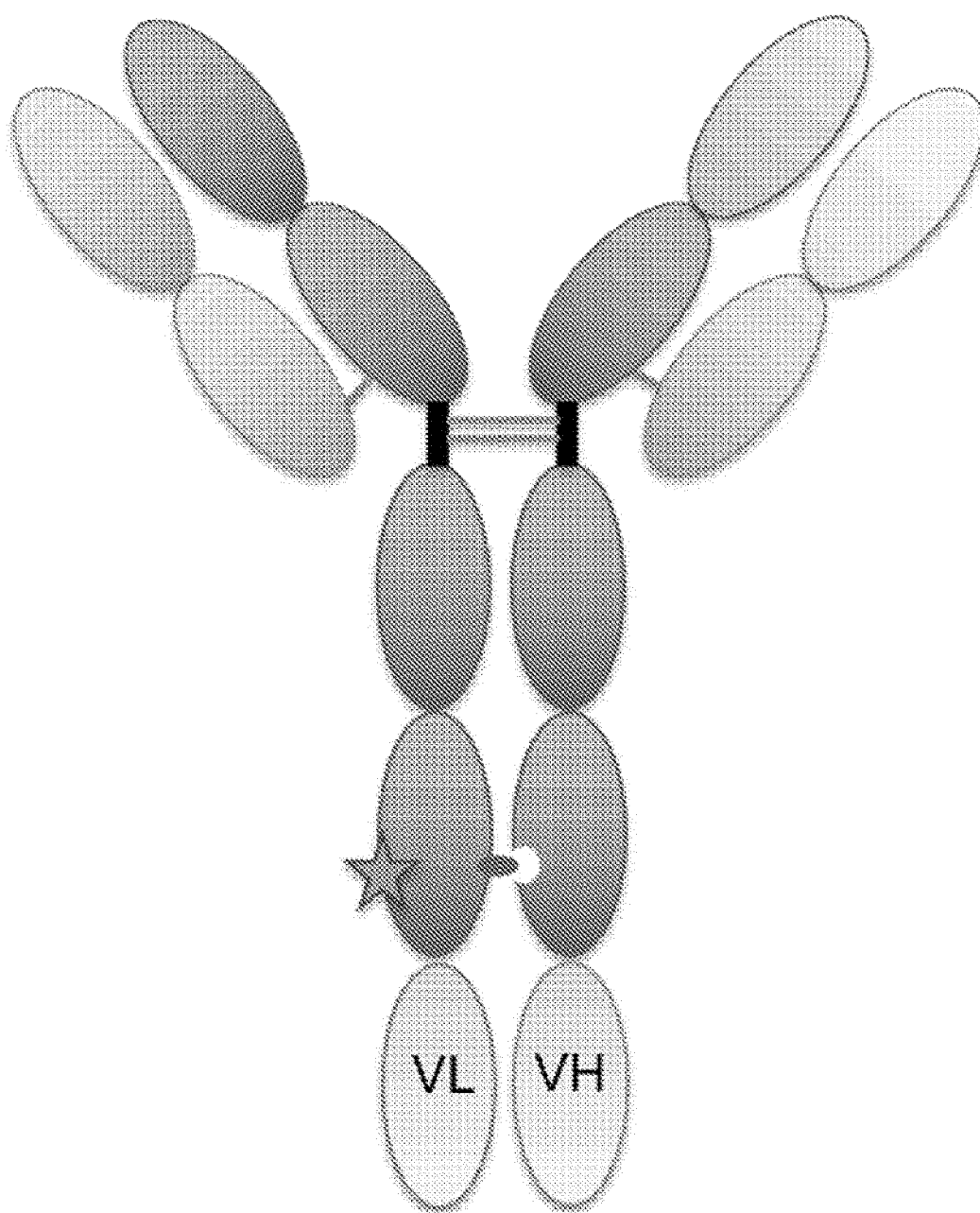
Фиг. 3D

Двухвалентный scFv на С-конце LC



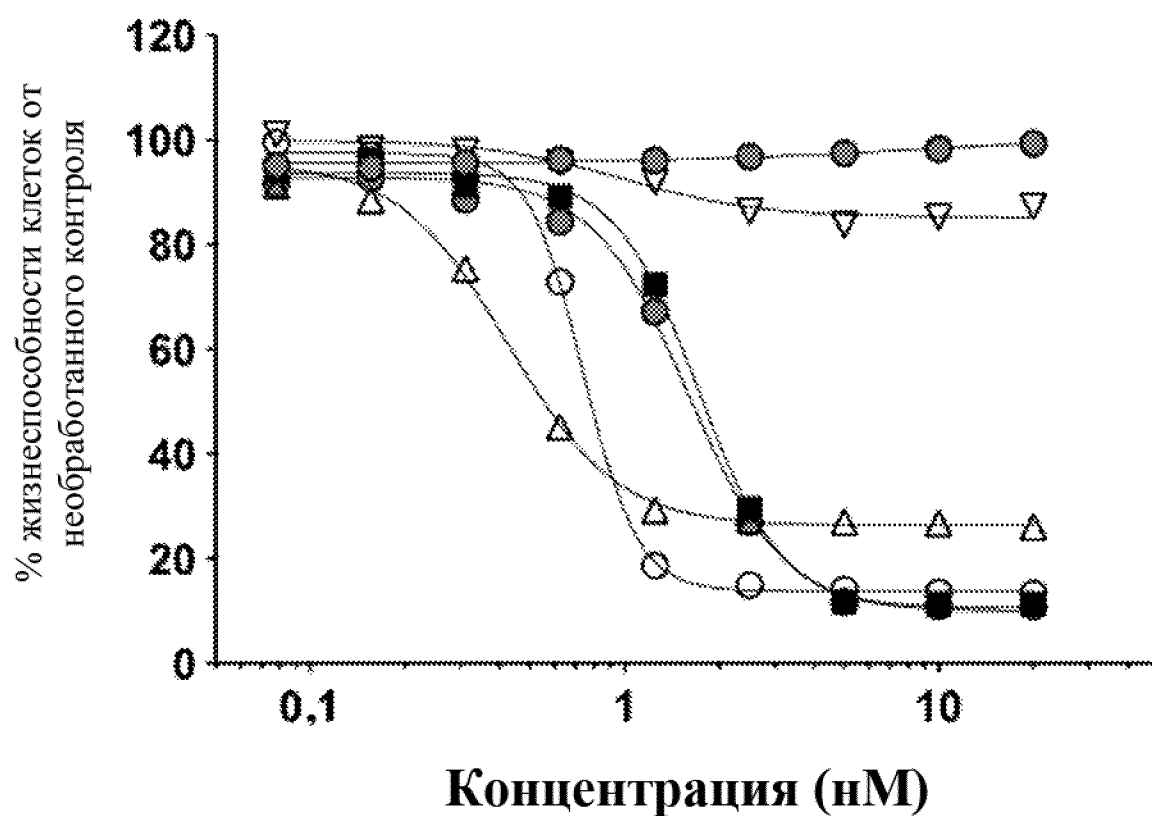
Фиг. 4

Фиг. 5



Фиг. 6А

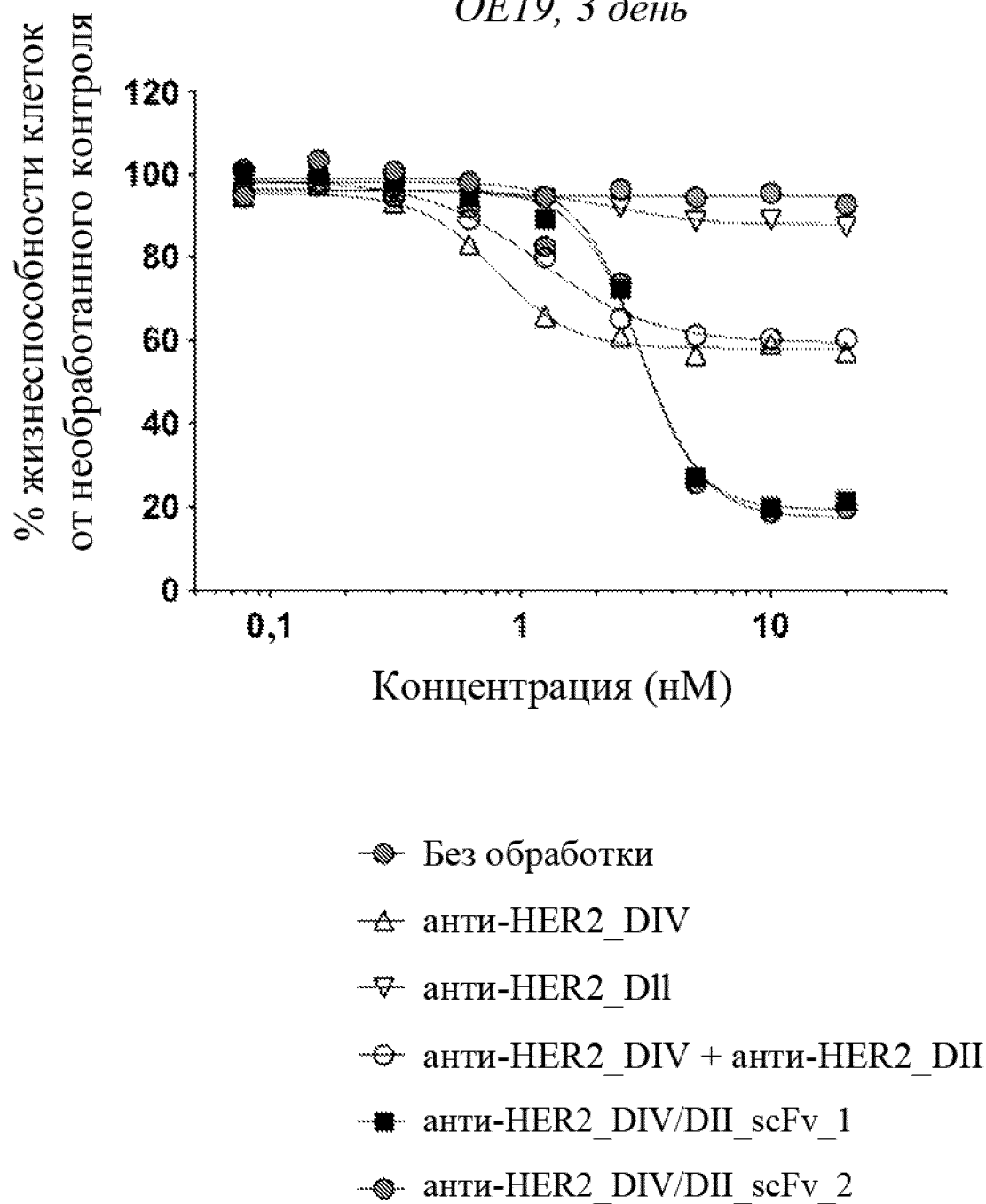
Анализ ингибирования роста (WST1) BT474, День 6



- Без обработки
- △ анти-HER2_DIV
- ▽ анти-HER2_DII
- анти-HER2_DIV + анти-HER2_DII
- анти-HER2_DIV/DII_scFv_1
- анти-HER2_DIV/DII_scFv_2

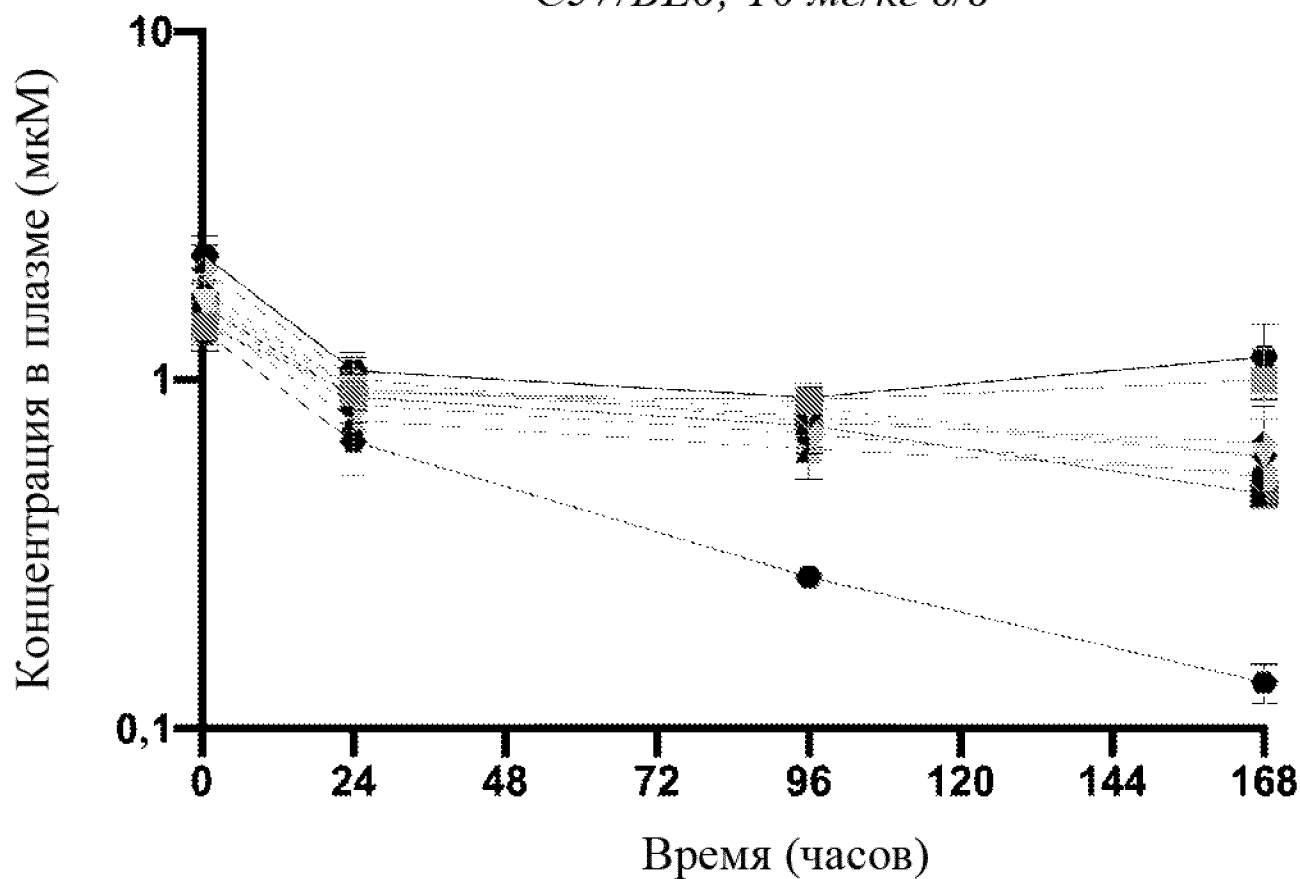
Фиг. 6В

Анализ ингибирования роста (WST1) OE19, 3 день

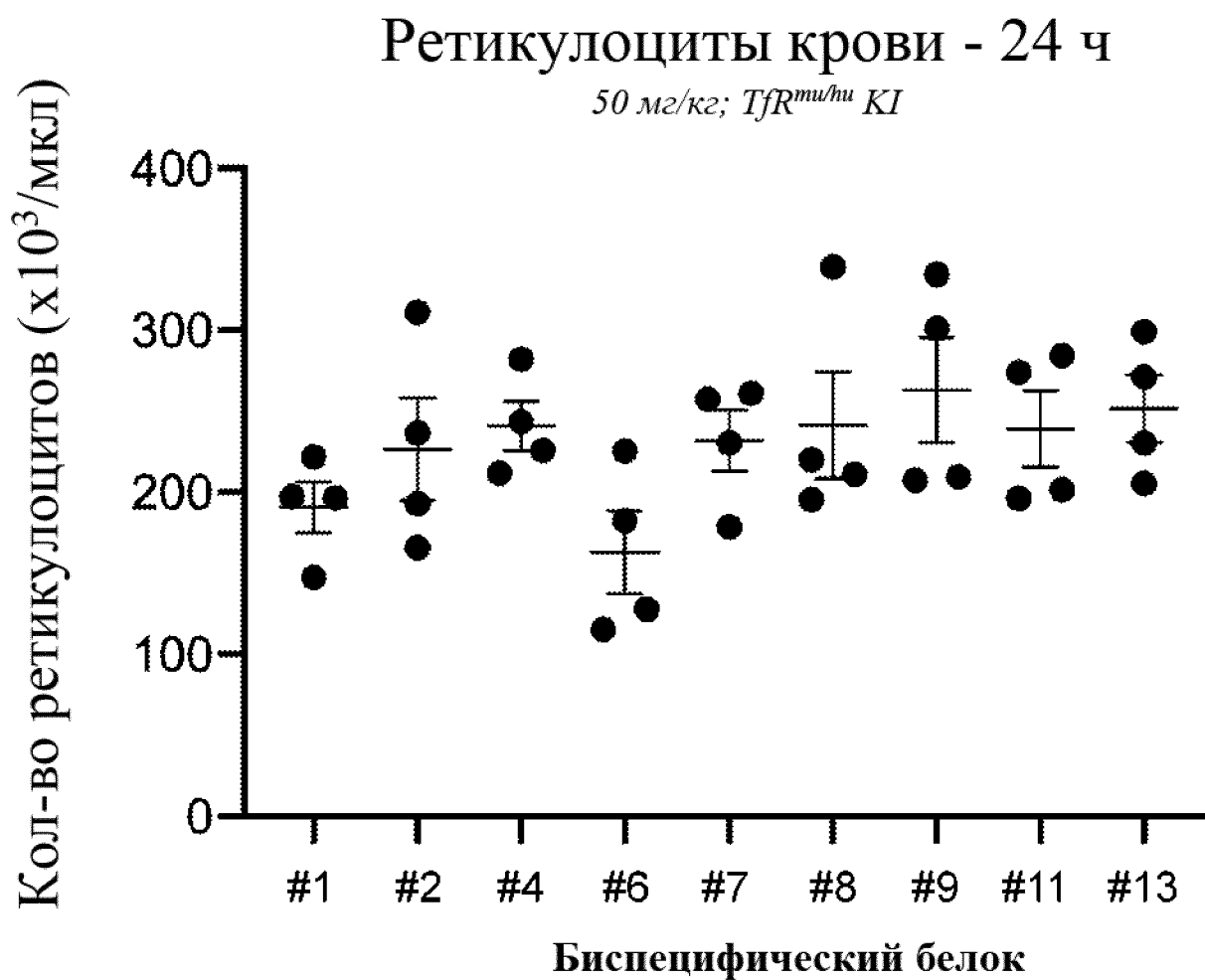


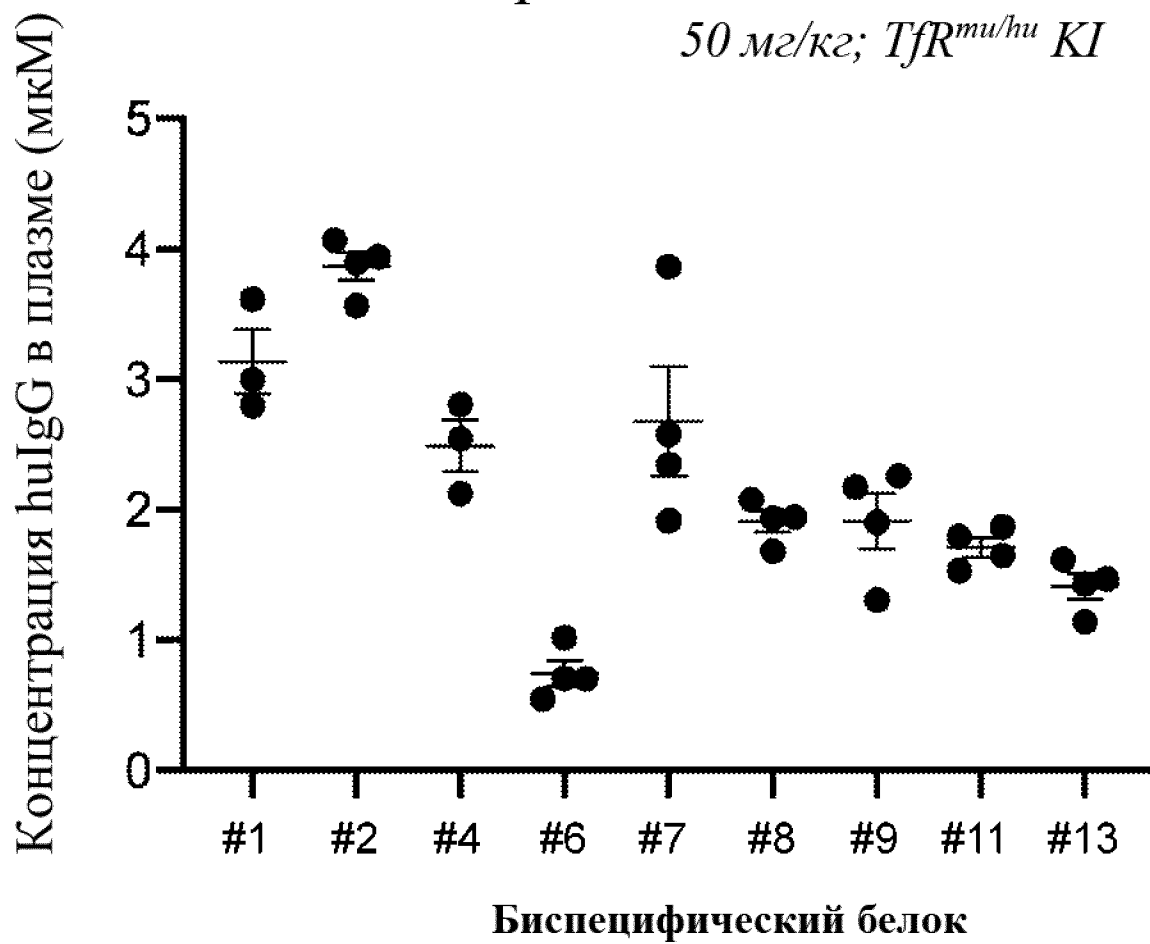
Фиг. 7

Фармакокинетика в плазме
C57/BL6; 10 мг/кг в/в



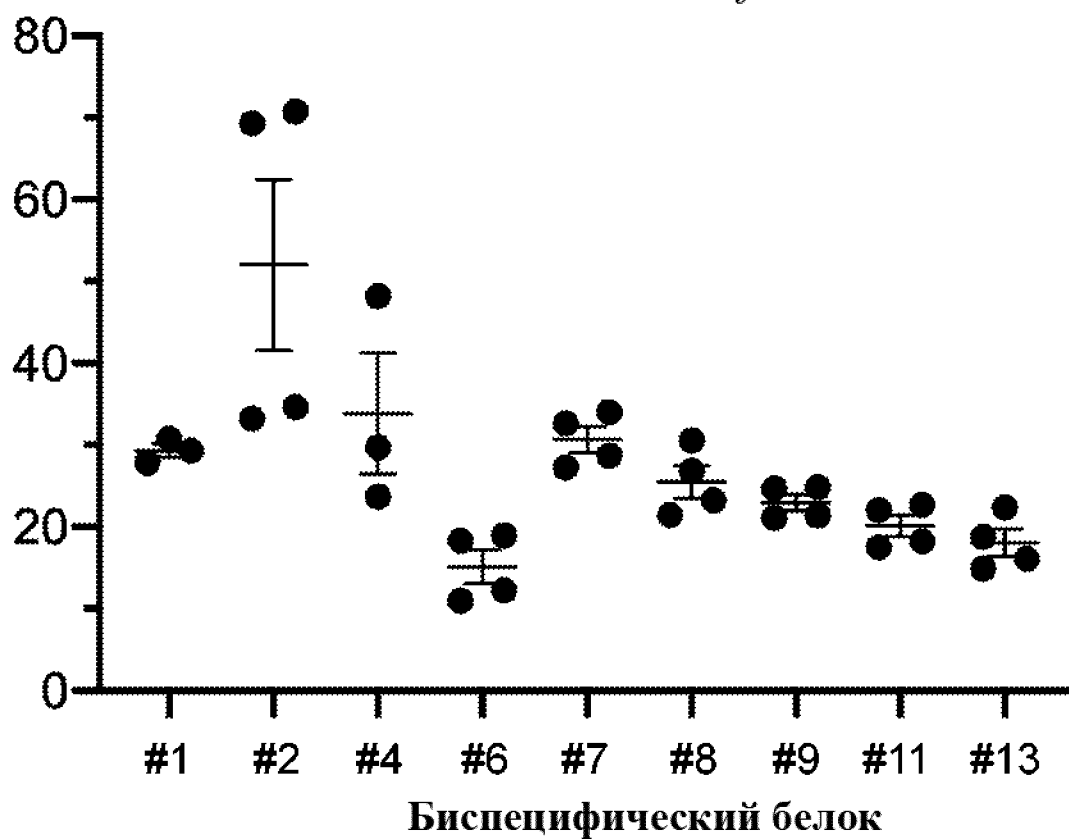
- Биспецифический белок № 1
- Биспецифический белок № 2
- Биспецифический белок № 4
- Биспецифический белок № 6
- Биспецифический белок № 7
- Биспецифический белок № 8
- Биспецифический белок № 9
- Биспецифический белок № 11
- Биспецифический белок № 13

Фиг. 8А

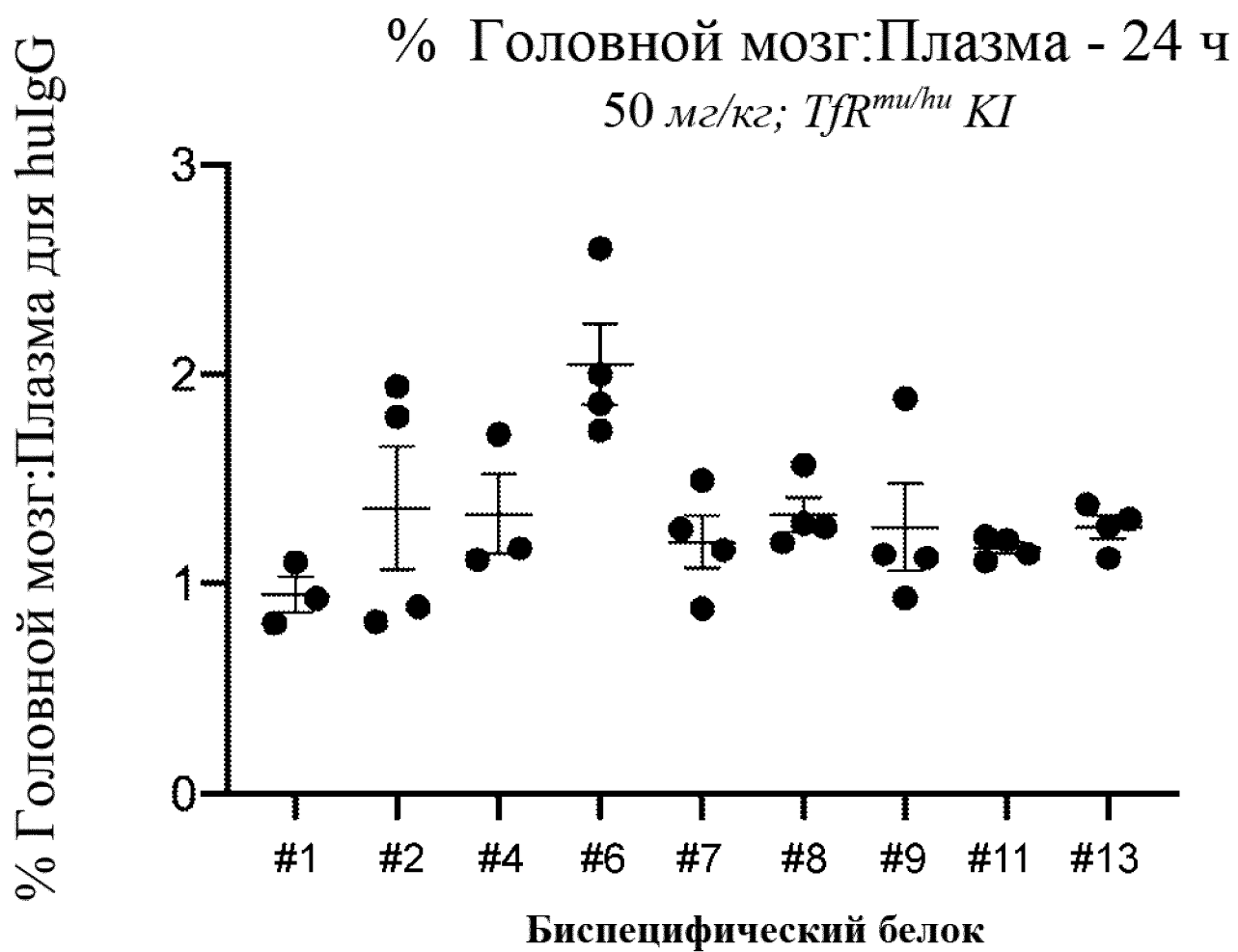
Фиг. 8В**Фармакокинетика в плазме - 24 ч***50 мг/кг; $TfR^{mu/hu}$ KI*

Фиг. 8С

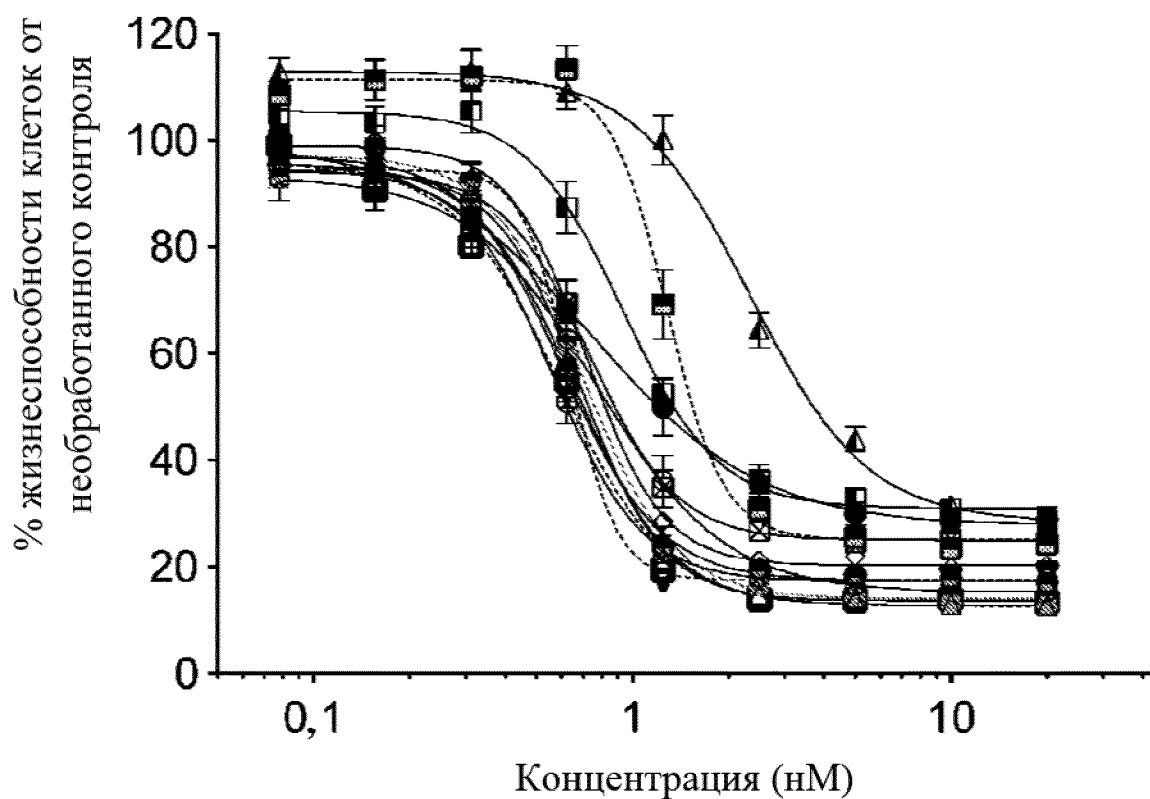
Концентрация huIgG в головном мозге (мкМ)

ФК в головном мозге - 24 ч
50 мг/кг; $TfR^{mu/hu}$ KI

Фиг. 8D

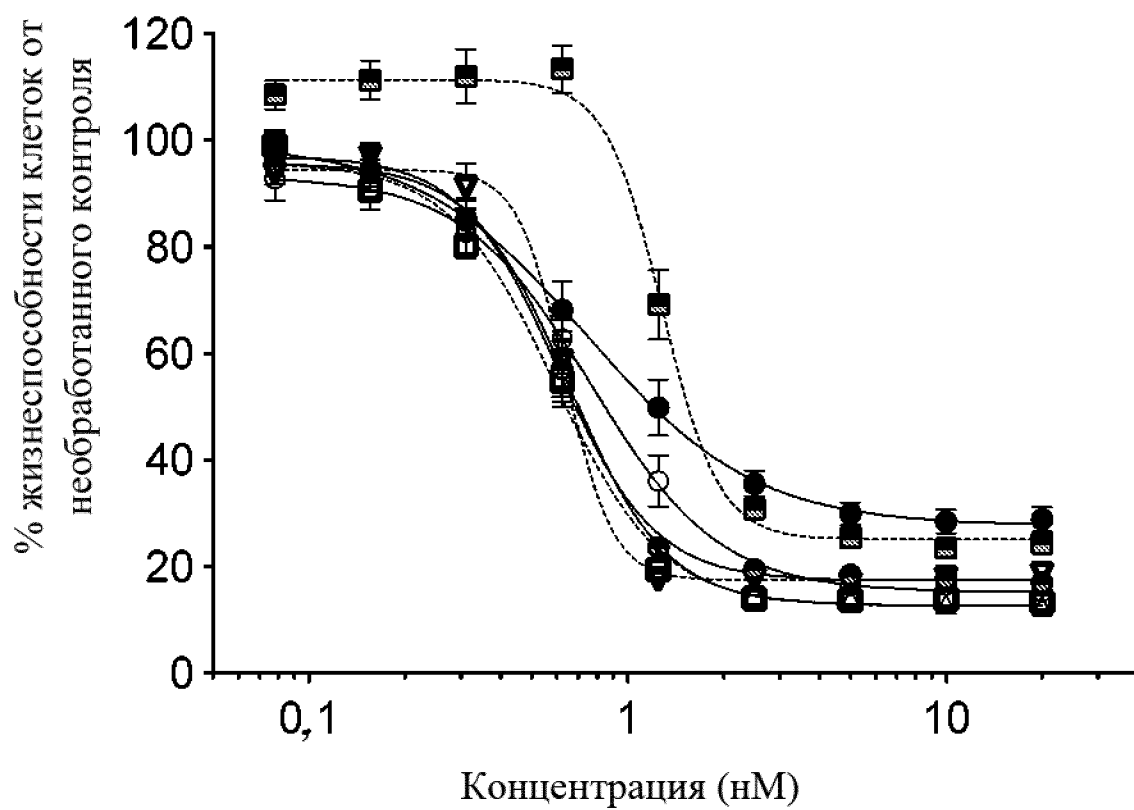


Фиг. 9А



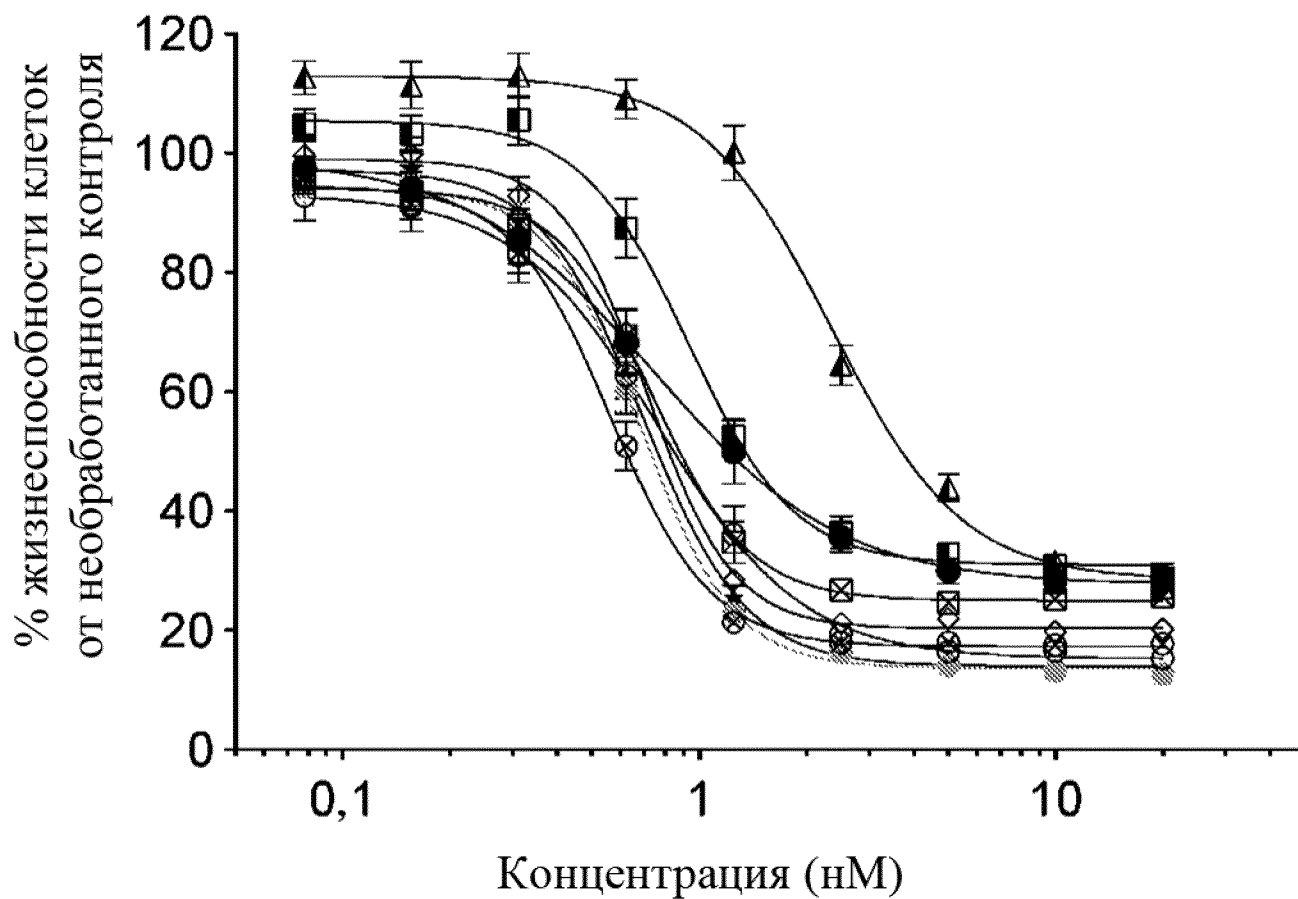
- Контроль к HER2DIV
- Контроль к HER2DIV + контроль к HER2DII
- Биспецифический белок № 2
- △— Биспецифический белок № 3
- ▼— Биспецифический белок № 4
- Биспецифический белок № 5
- Биспецифический белок № 6
- Биспецифический белок № 7
- Биспецифический белок № 8
- ▲— Биспецифический белок № 9
- Биспецифический белок № 10
- ★— Биспецифический белок № 11
- Биспецифический белок № 12
- Биспецифический белок № 13

Фиг. 9В



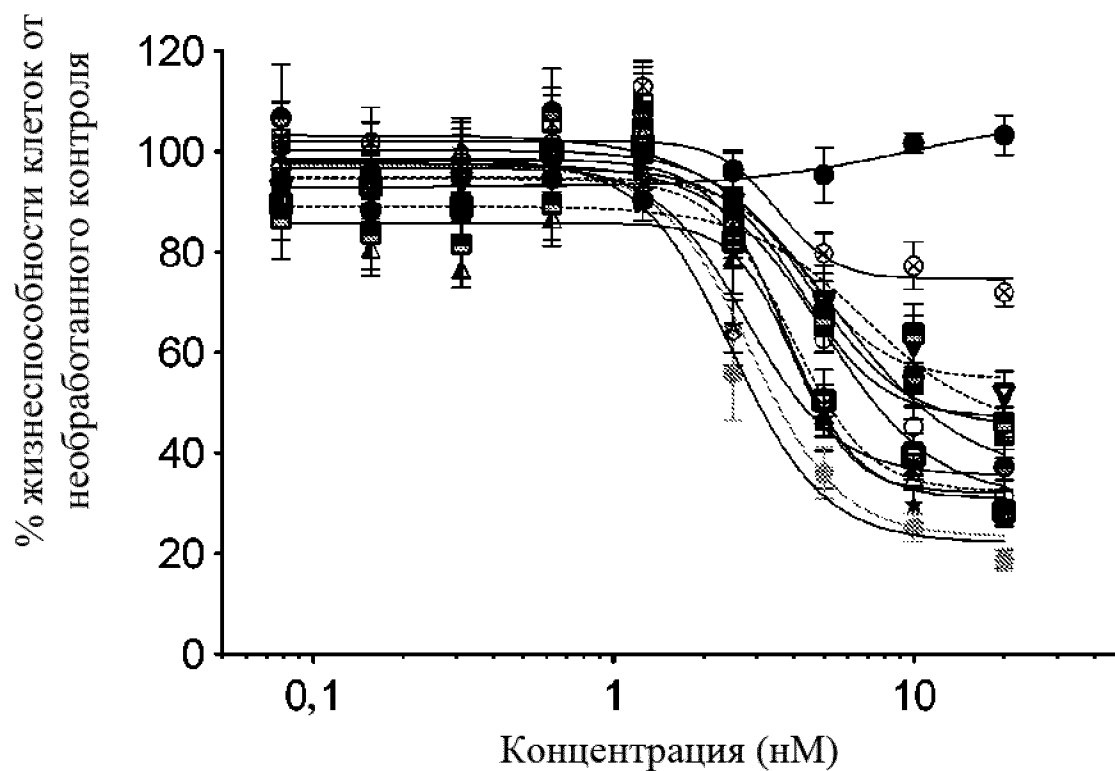
- Контроль к HER2DIV
- Контроль к HER2DIV + контроль к HER2DII
- Биспецифический белок № 2
- ▲--- Биспецифический белок № 3
- ▼--- Биспецифический белок № 4
- Биспецифический белок № 5
- Биспецифический белок № 6

Фиг. 9С



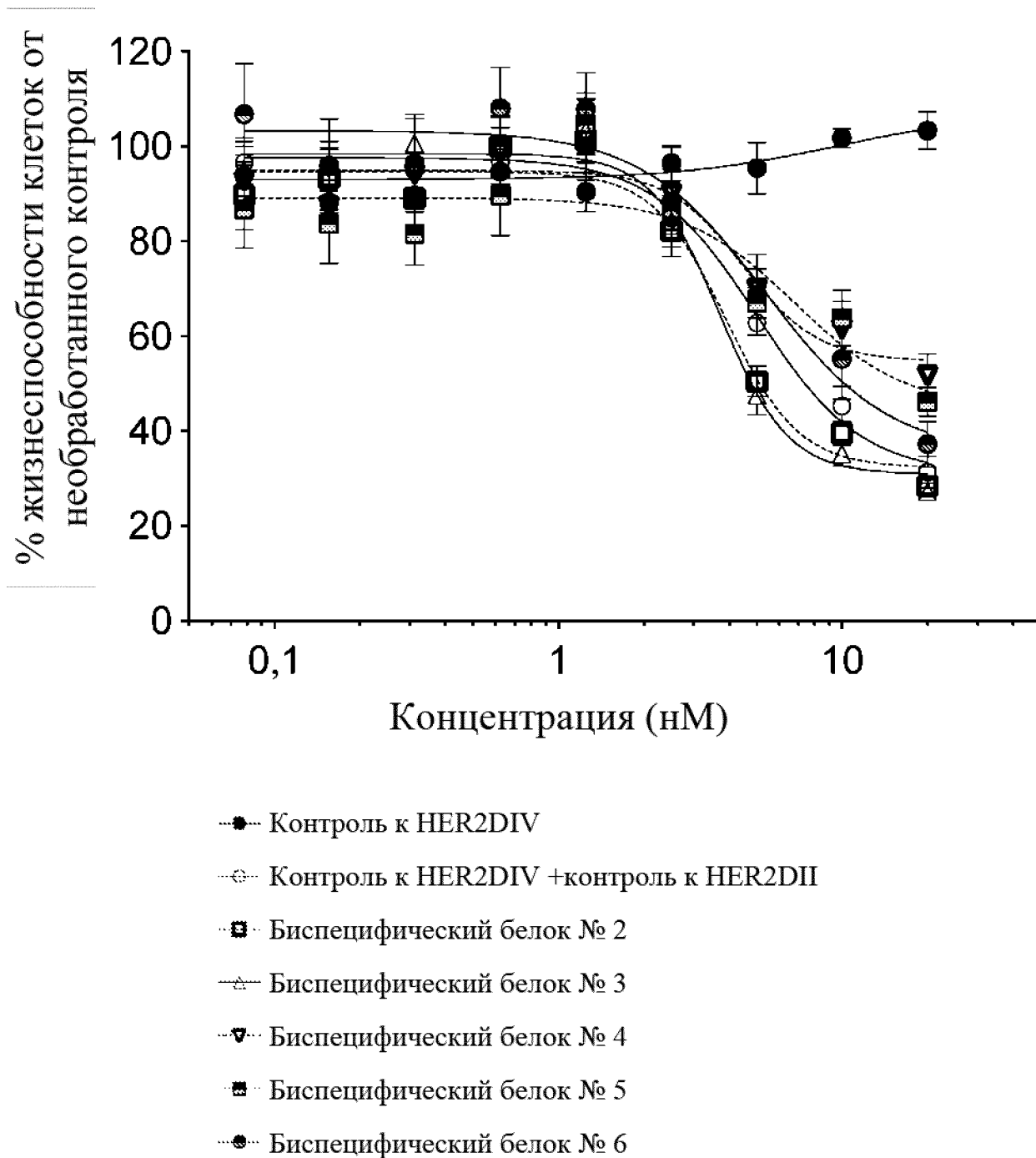
- Контроль к HER2DIV
- Контроль к HER2DIV + контроль к HER2DII
- Биспецифический белок № 7
- ◆— Биспецифический белок № 8
- ▲— Биспецифический белок № 9
- ◆— Биспецифический белок № 10
- ★— Биспецифический белок № 11
- ◆— Биспецифический белок № 12
- Биспецифический белок № 13

Фиг. 9D

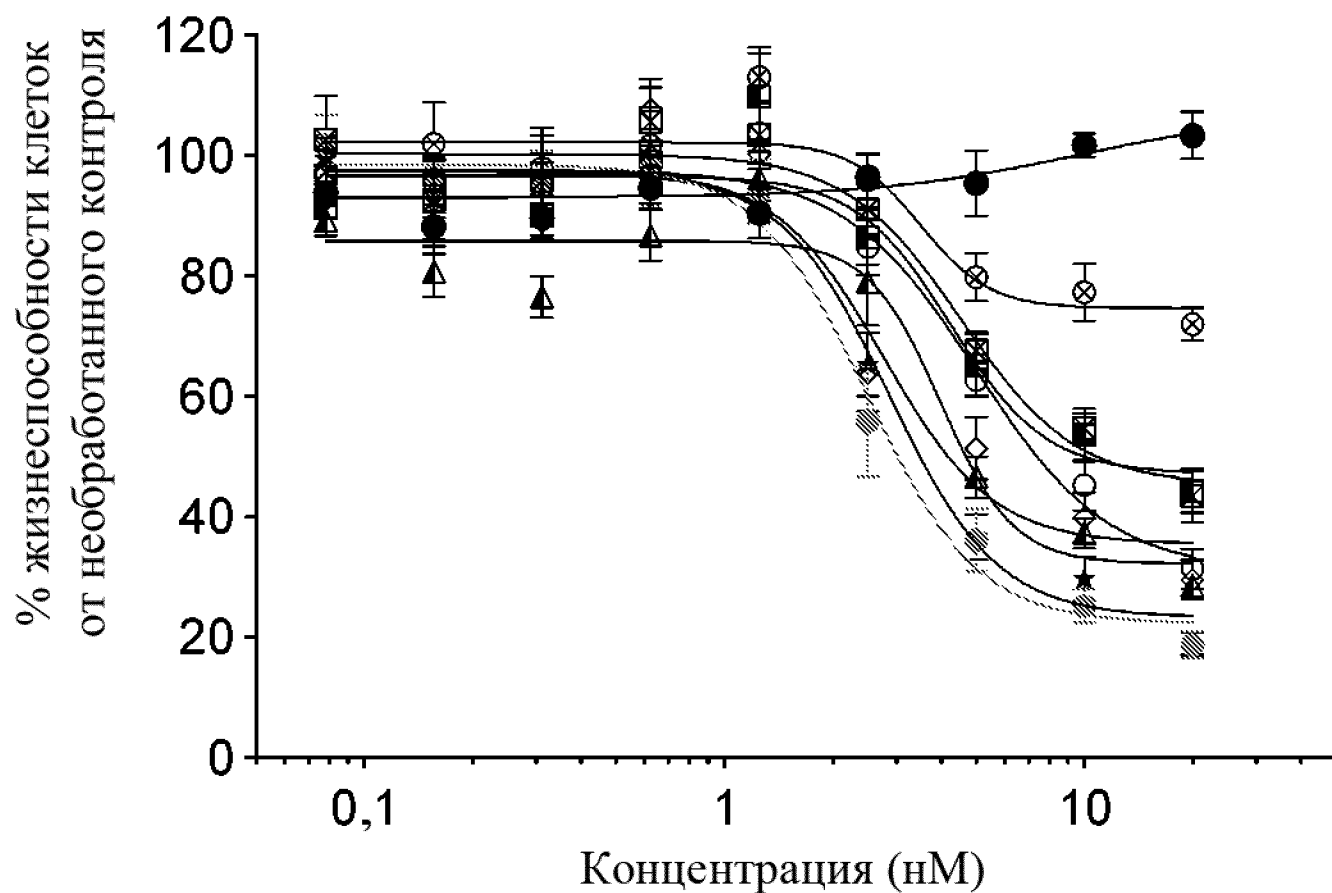


- Контроль к HER2DIV
- ⊕ Контроль к HER2DIV + контроль к HER2DII
- Биспецифический белок № 2
- ▲ Биспецифический белок № 3
- ▼ Биспецифический белок № 4
- Биспецифический белок № 5
- Биспецифический белок № 6
- ⊕ Биспецифический белок № 7
- ⊕ Биспецифический белок № 8
- ▲ Биспецифический белок № 9
- ⊕ Биспецифический белок № 10
- * Биспецифический белок № 11
- ⊕ Биспецифический белок № 12
- Биспецифический белок № 13

Фиг. 9Е

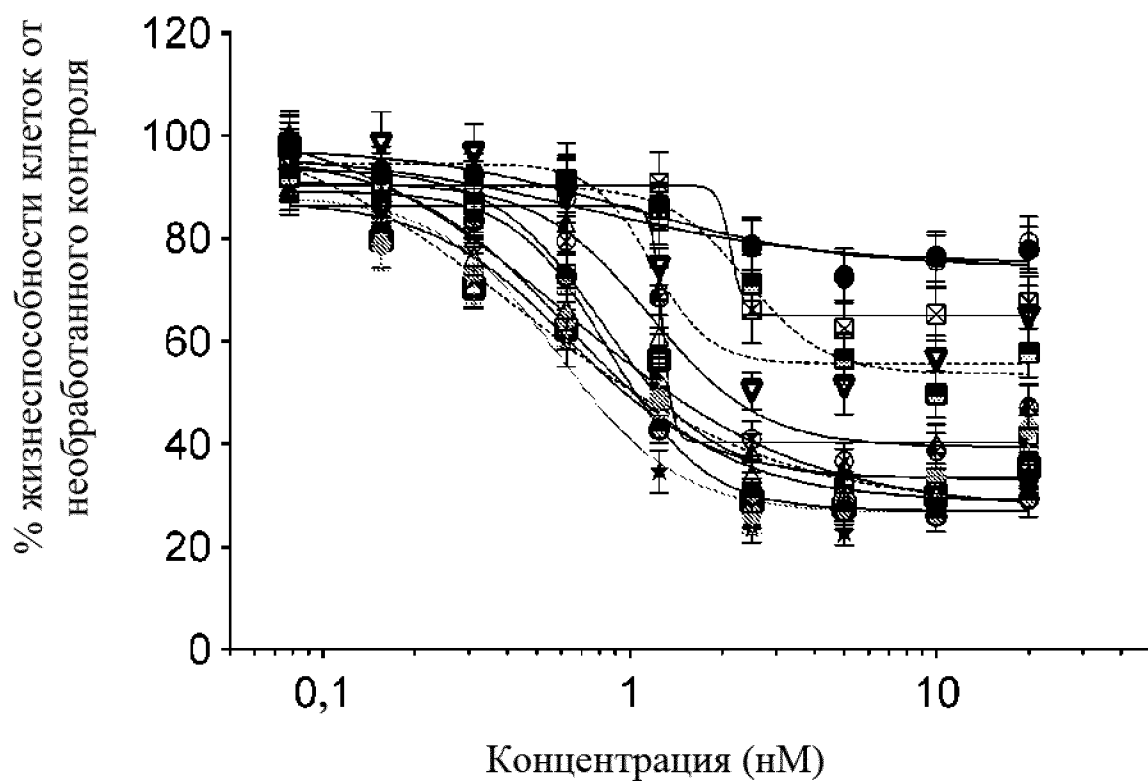


Фиг. 9F



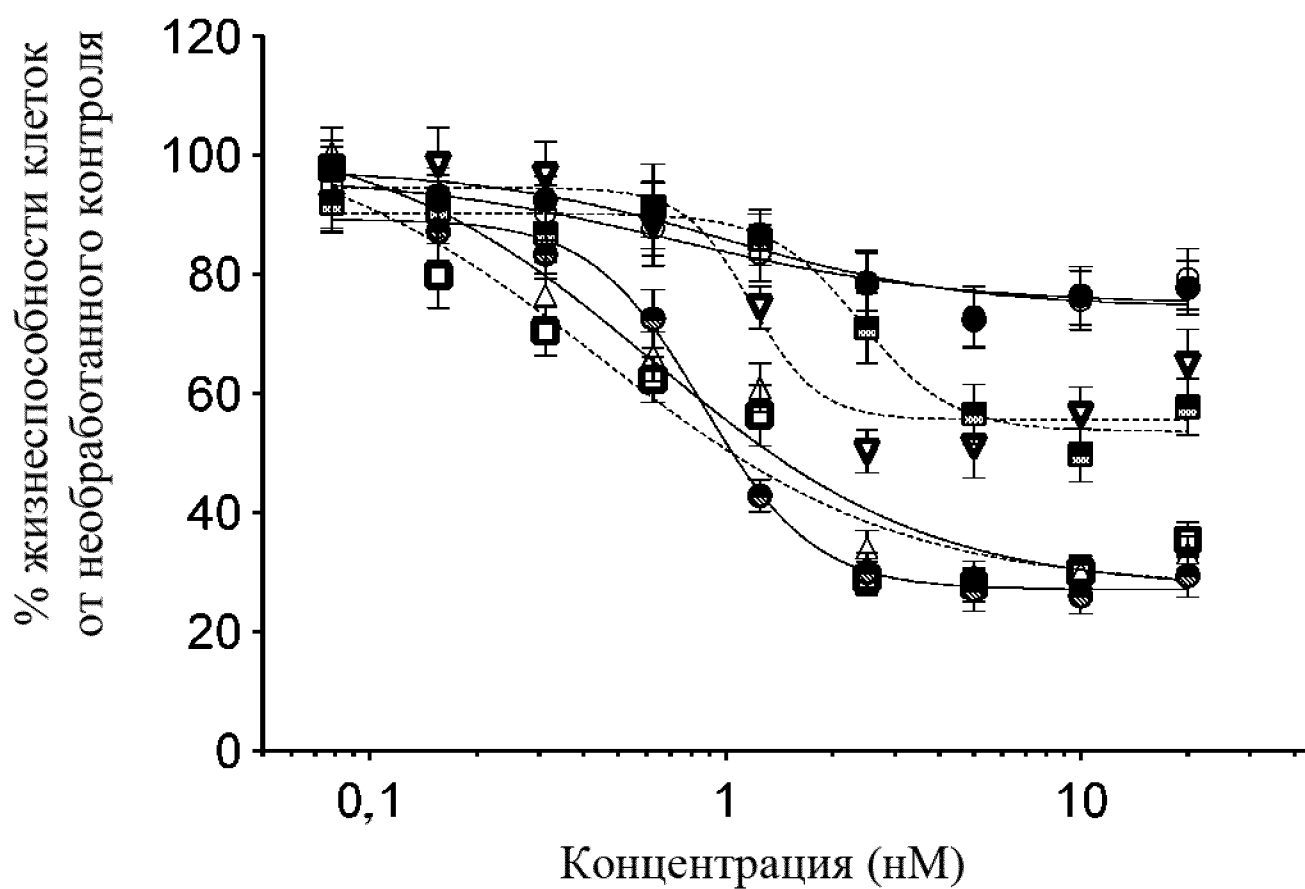
- Контроль к HER2DIV
- Контроль к HER2DIV + контроль к HER2DII
- Биспецифический белок № 7
- ◇ Биспецифический белок № 8
- ▲ Биспецифический белок № 9
- ▤ Биспецифический белок № 10
- ★ Биспецифический белок № 11
- ◇ Биспецифический белок № 12
- Биспецифический белок № 13

Фиг. 9G



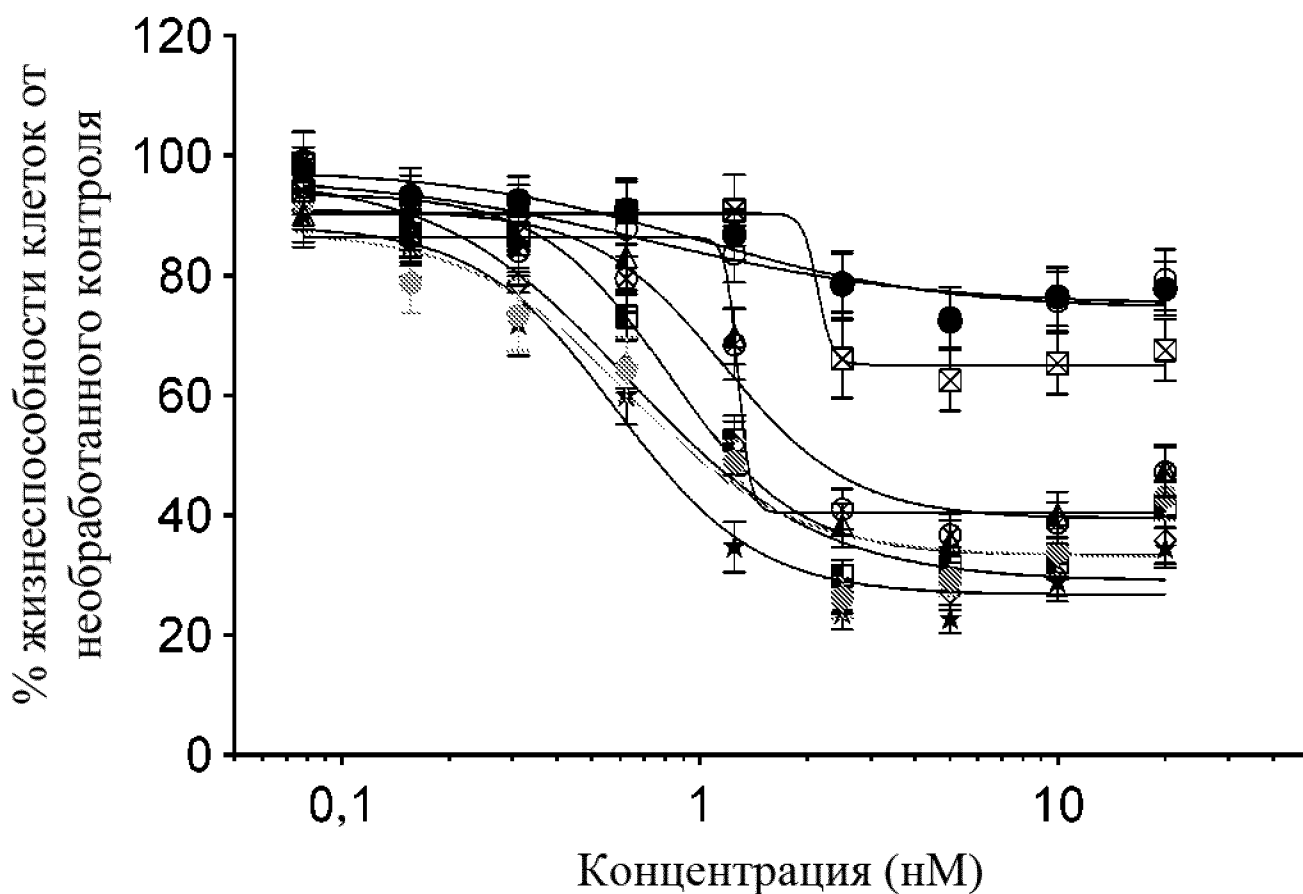
- Контрoль к HER2DIV
- Контрoль к HER2DIV +контрoль к HER2DII
- Биспeцифический белок № 2
- ▲ Биспeцифический белок № 3
- ▼ Биспeцифический белок № 4
- Биспeцифический белок № 5
- Биспeцифический белок № 6
- Биспeцифический белок № 7
- ◇ Биспeцифический белок № 8
- ▲ Биспeцифический белок № 9
- ◇ Биспeцифический белок № 10
- ★ Биспeцифический белок № 11
- ◇ Биспeцифический белок № 12
- Биспeцифический белок № 13

Фиг. 9Н



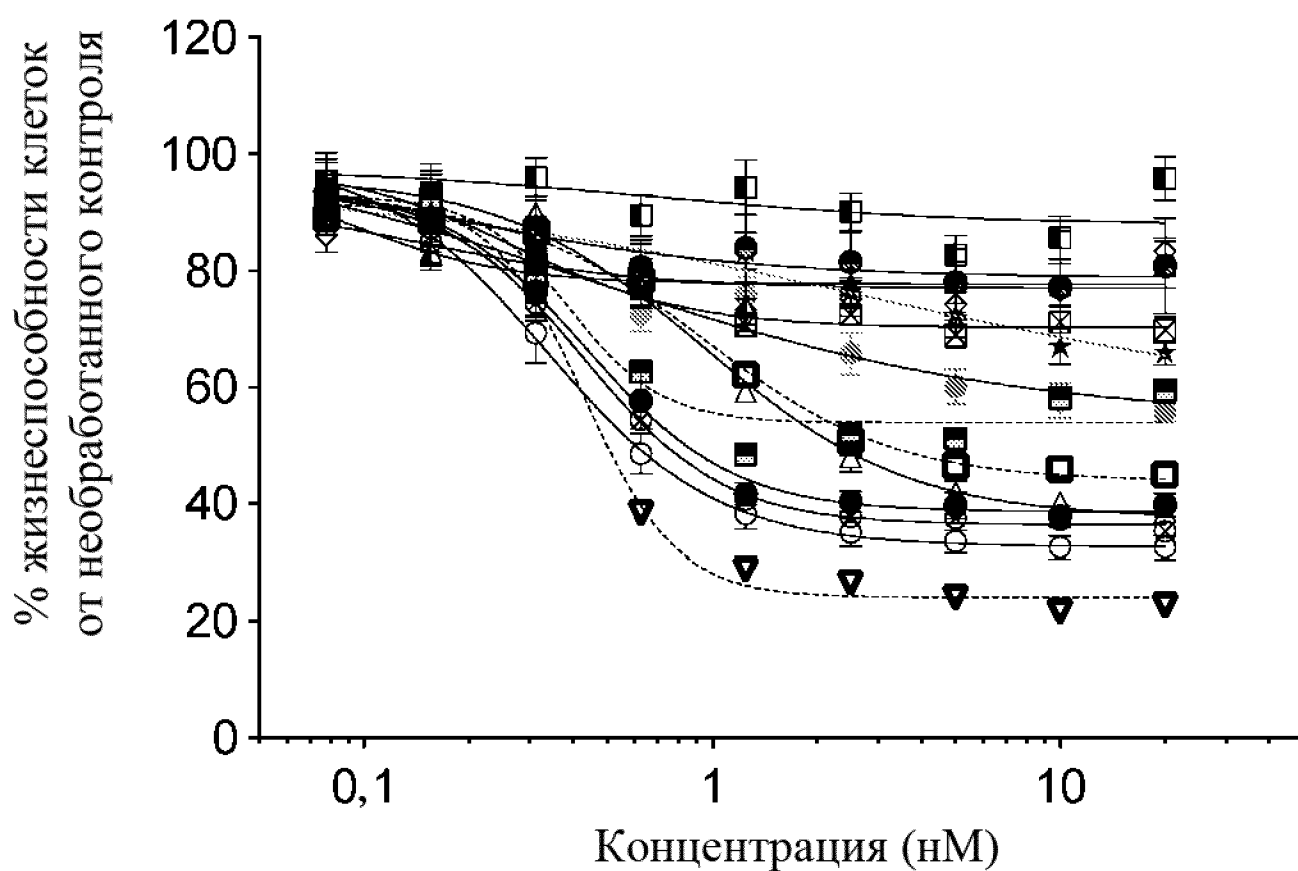
- Контроль к HER2DIV
- ◆ Контроль к HER2DIV + контроль к HER2DII
- Биспецифический белок № 2
- ▲ Биспецифический белок № 3
- ▼ Биспецифический белок № 4
- Биспецифический белок № 5
- Биспецифический белок № 6

Фиг. 9I



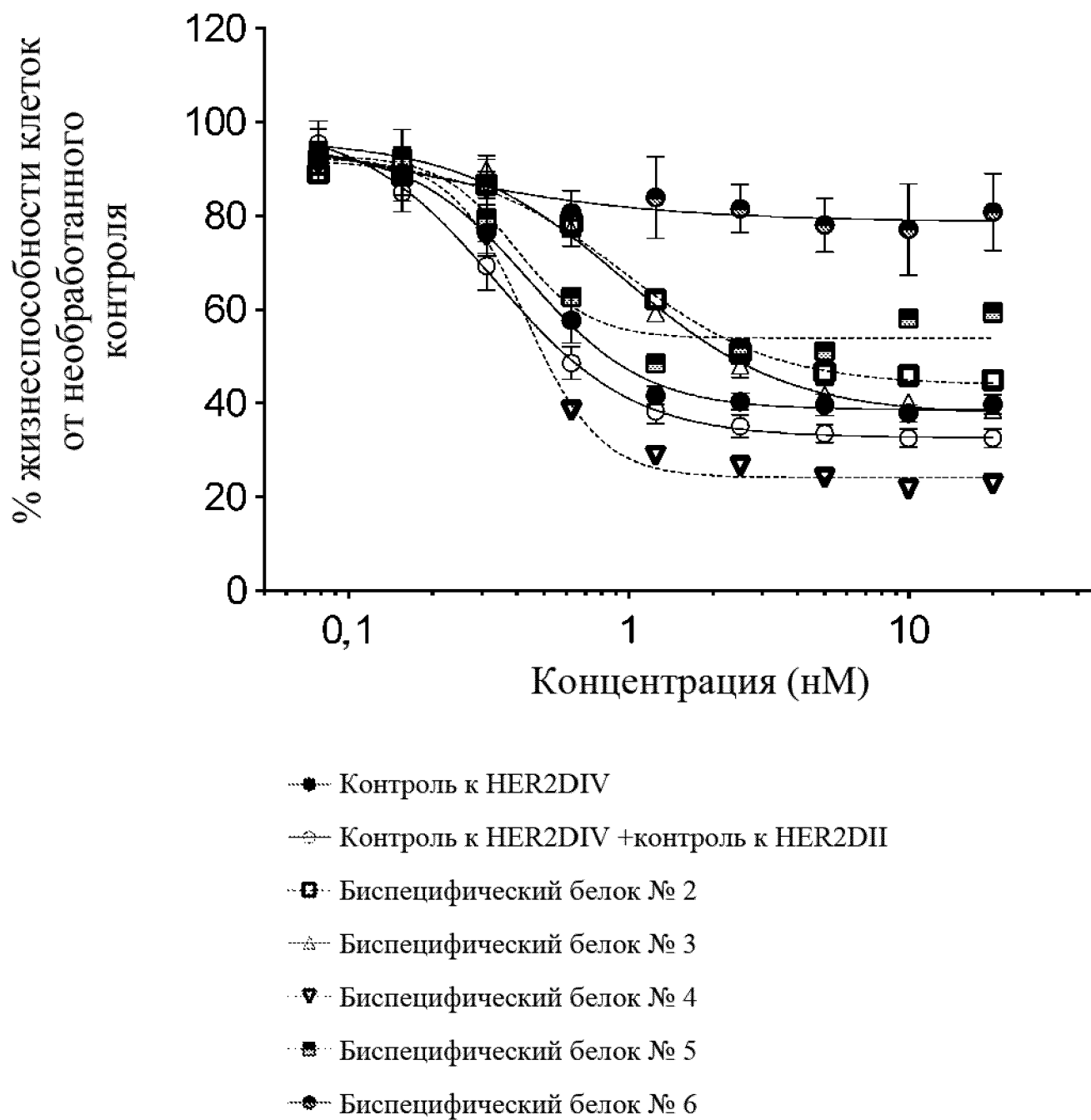
- Контроль к HER2DIV
- Контроль к HER2DIV + контроль к HER2DII
- Биспецифический белок № 7
- ◇ Биспецифический белок № 8
- ▲ Биспецифический белок № 9
- ◆ Биспецифический белок № 10
- ★ Биспецифический белок № 11
- ◇ Биспецифический белок № 12
- Биспецифический белок № 13

Фиг. 9J

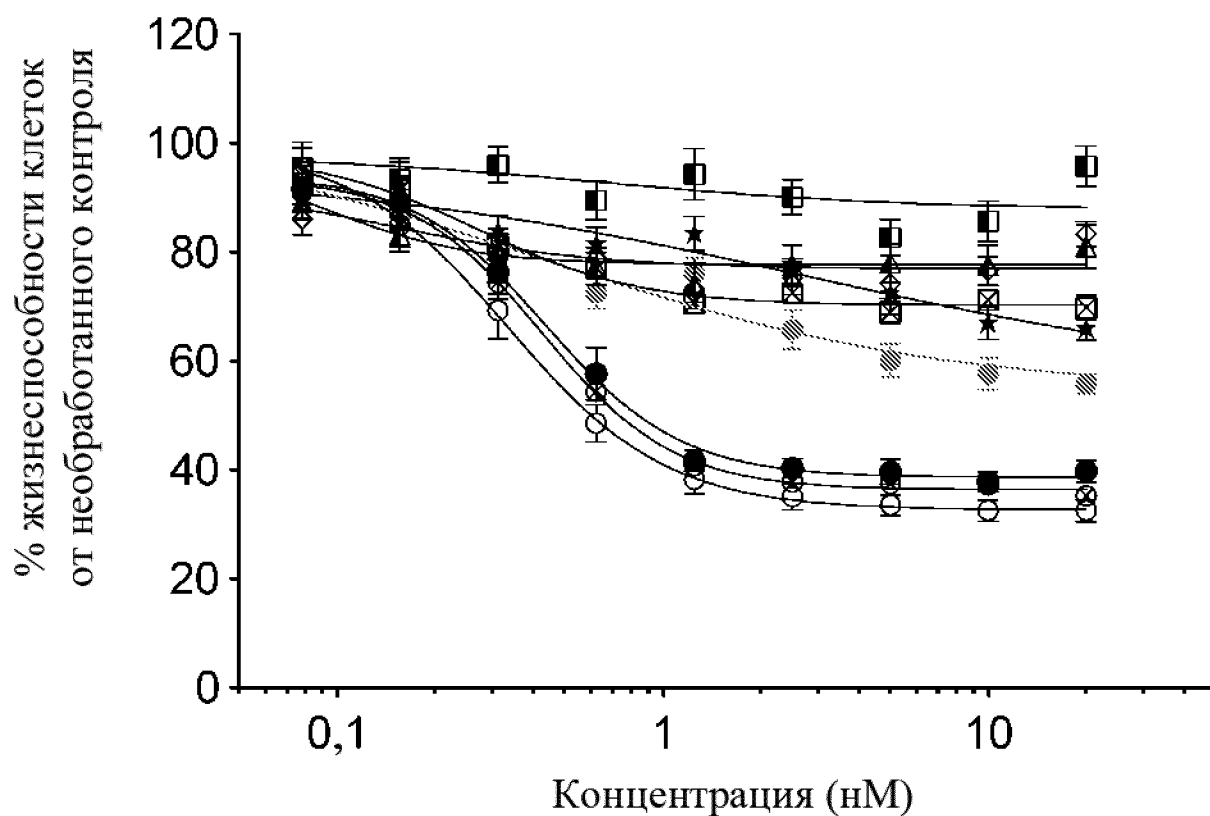


- Контроль к HER2DIV
- Контроль к HER2DIV + контроль к HER2DII
- Биспецифический белок № 2
- ▲ Биспецифический белок № 3
- ▼ Биспецифический белок № 4
- Биспецифический белок № 5
- Биспецифический белок № 6
- Биспецифический белок № 7
- ◇ Биспецифический белок № 8
- ★ Биспецифический белок № 9
- ◆ Биспецифический белок № 10
- ★ Биспецифический белок № 11
- ◇ Биспецифический белок № 12
- Биспецифический белок № 13

Фиг. 9К



Фиг. 9L



- Контроль к HER2DIV
- Контроль к HER2DIV + контроль к HER2DII
- Биспецифический белок № 7
- ◆ Биспецифический белок № 8
- ▲ Биспецифический белок № 9
- ◆ Биспецифический белок № 10
- ★ Биспецифический белок № 11
- ◇ Биспецифический белок № 12
- Биспецифический белок № 13