

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **042409**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.02.10

(21) Номер заявки
201890613

(22) Дата подачи заявки
2016.09.21

(51) Int. Cl. *A61K 31/496* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/40 (2006.01)

(54) **ПОЛИПЕПТИДЫ, СВЯЗЫВАЮЩИЕ CD3**

(31) **62/221,190**

(32) **2015.09.21**

(33) **US**

(43) **2018.10.31**

(86) **PCT/US2016/052942**

(87) **WO 2017/053469 2017.03.30**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**АПТЕВО РИСЁРЧ ЭНД
ДЕВЕЛОПМЕНТ ЛЛС (US)**

(72) Изобретатель:
Тан Филип, Бланкеншип Джон В. (US)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) **WO-A2-2016094873**

US-A1-20140088295

WO-A2-2013158856

ANASETTI et al. "Induction of specific nonresponsiveness in unprimed human T cells by anti-CD3 antibody and alloantigen," The Journal of Experimental Medicine, 01 December 1990 (01.12.1990), Vol. 172, Pgs. 1691-1700. entire document

WO-A2-2016014974

(57) Изобретение относится к белковым молекулам, которые специфически связываются с CD3, которые могут иметь по меньшей мере один гуманизированный CD3-связывающий домен. Такие молекулы применимы для лечения рака. Белковая молекула, связывающаяся с CD3, может иметь второй связывающий домен, который связывается с другой мишенью. В одном варианте реализации мультиспецифические молекулы связывают как экспрессирующие опухолевый антиген клетки, так и субъединицу CD3 комплекса Т-клеточного рецептора на Т-клетках, чтобы индуцировать мишень-зависимую цитотоксичность, активацию и пролиферацию Т-клеток. В изобретении также предложены фармацевтические композиции, содержащие молекулы CD3-связывающего полипептида, молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие эти полипептиды, а также способы создания этих молекул.

B1

042409

042409

B1

Данная заявка заявляет приоритет и преимущество предварительной заявки на патент США № 62/221190, поданной 21 сентября 2015 г. Содержание этой заявки в полном объеме включено в данный документ посредством ссылки.

Описание текстового файла, поданного в электронной форме

Содержание текстового файла, поданного в электронной форме, в полном объеме включено в данный документ посредством ссылки: копия перечня последовательностей в машиночитаемом формате (название файла: APVO_052_01WO_SeqList_ST25.txt, дата записи: 21 сентября 2016 г., размер файла составляет 544 кБ).

Область техники изобретения

Настоящее изобретение относится к молекулам, которые специфически связываются с CD3, которые могут иметь по меньшей мере один гуманизованный CD3-связывающий домен. Белковое терапевтическое средство, связывающее CD3, может представлять собой белковое терапевтическое средство или мультиспецифическое белковое терапевтическое средство. Мультиспецифическое белковое терапевтическое средство может связывать субъединицы как опухолевого антигена, так и CD3 комплекса Т-клеточного рецептора на Т-клетках, чтобы индуцировать мишень-зависимую цитотоксичность, активацию и пролиферацию Т-клеток.

Уровень техники изобретения

Нацеливание анти-CD3 антител на комплекс Т-клеточного рецептора (ТКР) на человеческих Т-клетках было предложено для лечения аутоиммунного заболевания и родственных нарушений, например для лечения отторжения органного аллотрансплантата. Кроме моноспецифических терапевтических средств, нацеленных на CD3, мультиспецифические полипептиды, которые избирательно связываются как с Т-клетками, так и с опухолевыми клетками, могут обеспечивать механизм для перенаправления Т-клеточной цитотоксичности на опухолевые клетки. Такие мультиспецифические полипептиды могут быть полезны для лечения рака. Клиническое применение некоторых анти-CD3 антител было затруднено серьезными побочными явлениями. Например, ОКТ3, мышинное моноклональное антитело, специфическое в отношении человеческого CD3, индуцировало пролиферацию Т-клеток и выработку цитокинов *in vitro* и приводило к масштабному высвобождению цитокинов *in vivo* (Hirsch et al. (1989) J. Immunol 142: 737-43). Высвобождение цитокинов (также называемое "цитокиновым штормом") в свою очередь приводило к "гриппоподобному" синдрому, характеризующему лихорадкой, ознобом, головными болями, тошнотой, рвотой, диареей, дыхательной недостаточностью, септическим менингитом и гипотензией (Chatenoud (2003) Nature Reviews 3:123-132).

Существует потребность в CD3-связывающих молекулах, которые имеют улучшенную термостабильность с благоприятным профилем в отношении возможности производства и сниженными неблагоприятными явлениями.

Сущность изобретения

Данное изобретение включает в себя CD3-связывающие домены и полипептиды, которые имеют обеспечивающий преимущество профиль возможности производства. Описанные в данном документе полипептиды, содержащие CD3-связывающие домены, могут быть термически стабильными. В некоторых случаях полипептид имеет улучшенную термостабильность по сравнению с другим CD3-связывающим полипептидом. Описанные в данном документе CD3-связывающие домены и полипептиды могут иметь сниженные побочные явления (например, могут приводить к высвобождению низких уровней цитокинов при введении субъекту). В определенных вариантах реализации данное изобретение относится к CD3-связывающему домену, который специфически связывается с человеческим CD3 и содержит вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина и вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина; при этом вариабельная область легкой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность, которая (a) по меньшей мере на приблизительно 93% идентична, по меньшей мере на приблизительно 95% идентична, по меньшей мере на приблизительно 97% идентична, по меньшей мере на приблизительно 98% идентична или по меньшей мере на приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности в SEQ ID NO: 88; или (b) по меньшей мере на приблизительно 94% идентична, по меньшей мере на приблизительно 95% идентична, по меньшей мере на приблизительно 97% идентична, по меньшей мере на приблизительно 98% идентична или по меньшей мере на приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности в SEQ ID NO: 89; и при этом вариабельная область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на приблизительно 82% идентична, по меньшей мере на приблизительно 85% идентична, по меньшей мере на приблизительно 87% идентична, по меньшей мере на приблизительно 90% идентична, по меньшей мере на приблизительно 92% идентична, по меньшей мере на приблизительно 95% идентична, по меньшей мере на приблизительно 97% идентична, по меньшей мере на приблизительно 98% идентична или по меньшей мере на приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности в SEQ ID NO: 86. CD3-связывающий домен может содержать аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на приблизительно 87% идентична, по меньшей мере на приблизительно 90% идентична, по меньшей мере на приблизительно 92% идентична, по меньшей мере на приблизительно 95% идентична, по меньшей мере на приблизительно 97% идентична, по меньшей мере на приблизи-

тельно 98% идентична или по меньшей мере на приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности в SEQ ID NO: 83 или SEQ ID NO: 84. CD3-связывающий домен может содержать SEQ ID NO: 83 или SEQ ID NO: 84.

В одном варианте реализации CD3-связывающий домен содержит переменную область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность LCDR1 согласно SEQ ID NO: 94, аминокислотную последовательность LCDR2 согласно SEQ ID NO: 95 и аминокислотную последовательность LCDR3 согласно SEQ ID NO: 96, и переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность HCDR1 согласно SEQ ID NO: 91, аминокислотную последовательность HCDR2 согласно SEQ ID NO: 92 и аминокислотную последовательность HCDR3 согласно SEQ ID NO: 93. В другом варианте реализации CD3-связывающий домен содержит переменную область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность LCDR1 согласно SEQ ID NO: 202, аминокислотную последовательность LCDR2 согласно SEQ ID NO: 203 и аминокислотную последовательность LCDR3 согласно SEQ ID NO: 204, и переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность HCDR1 согласно SEQ ID NO: 199, аминокислотную последовательность HCDR2 согласно SEQ ID NO: 200 и аминокислотную последовательность HCDR3 согласно SEQ ID NO: 201. В определенных аспектах CD3-связывающий домен может содержать переменную область легкой цепи иммуноглобулина и переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которые содержат каркасные области, и по меньшей мере одна из переменной области легкой цепи иммуноглобулина и переменной области тяжелой цепи иммуноглобулина может быть гуманизирована. В одном варианте реализации переменная область легкой цепи иммуноглобулина содержит каркасные области на основании аминокислотной последовательности человеческой зародышевой линии IGKV3D-20*1. В другом варианте реализации переменная область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит каркасные области на основании аминокислотной последовательности человеческой зародышевой линии IGHV1-69*02. В некоторых вариантах реализации аминокислотный остаток в позиции 52 в соответствии с системой нумерации IMGT переменной области легкой цепи иммуноглобулина CD3-связывающего домена представляет собой аргинин и/или аминокислотный остаток в позиции 53 в соответствии с системой нумерации IMGT переменной области легкой цепи иммуноглобулина CD3-связывающего домена представляет собой триптофан. Аминокислотный остаток в позиции 27 в соответствии с системой нумерации IMGT переменной области тяжелой цепи иммуноглобулина CD3-связывающего домена может представлять собой тирозин. В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий домен содержит одно или более из следующего: (а) аминокислотный остаток в позиции 9 в соответствии с системой нумерации IMGT переменной области тяжелой цепи иммуноглобулина представляет собой пролин; (б) аминокислотный остаток в позиции 53 в соответствии с системой нумерации IMGT переменной области тяжелой цепи иммуноглобулина представляет собой изолейцин; и (с) аминокислотный остаток в позиции 21 в соответствии с системой нумерации IMGT переменной области легкой цепи иммуноглобулина представляет собой метионин. Аминокислотный остаток в позиции 87 в соответствии с системой нумерации IMGT переменной области легкой цепи иммуноглобулина CD3-связывающего домена может представлять собой тирозин. Аминокислотный остаток в позиции 86 в соответствии с системой нумерации IMGT переменной области легкой цепи иммуноглобулина CD3-связывающего домена может представлять собой аспарагиновую кислоту. В одном варианте реализации аминокислотный остаток в позиции 86 в соответствии с системой нумерации IMGT переменной области легкой цепи иммуноглобулина CD3-связывающего домена представляет собой аспарагиновую кислоту, а аминокислотный остаток в позиции 87 в соответствии с системой нумерации IMGT переменной области тяжелой цепи иммуноглобулина CD3-связывающего домена представляет собой тирозин. Данное изобретение также включает CD3-связывающий домен, который представляет собой одноцепочечный переменный фрагмент (scFv). В некоторых аспектах scFv может содержать линкер между переменной областью тяжелой цепи и переменной областью легкой цепи. В одном варианте реализации линкер между переменной областью тяжелой цепи и переменной областью легкой цепи содержит аминокислотную последовательность QRHNSSLNTGTQMAGHSPNS (SEQ ID NO: 148). В некоторых вариантах реализации переменная область тяжелой цепи scFv является аминоконцевой относительно переменной области легкой цепи scFv. В других вариантах реализации переменная область легкой цепи scFv является аминоконцевой относительно переменной области тяжелой цепи scFv. Данное изобретение включает CD3-связывающий домен, который имеет термостабильность, повышенную по меньшей мере на 10% по сравнению с термостабильностью CD3-связывающего домена, содержащего переменную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 90, и переменную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 87. Средняя точка термперехода (T_m) CD3-связывающего домена может быть повышена по меньшей мере на приблизительно 3°C, по меньшей мере на приблизительно 4°C, по меньшей мере на приблизительно 5°C или по меньшей мере на приблизительно 6°C и до приблизительно 20°C по сравнению с T_m CD3-связывающего домена, содержащего переменную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 90, и переменную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 87. Средняя точка термперехода CD3-связывающего домена может составлять по меньшей мере приблизительно 54°C, по меньшей мере приблизительно 55°C, по меньшей мере

приблизительно 56°C или по меньшей мере приблизительно 57°C и до приблизительно 72°C. Термостабильность или среднюю точку термоперехода CD3-связывающего домена можно определить с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии или дифференциальной сканирующей флуориметрии. Описанный в данном документе CD3-связывающий домен может характеризоваться стабильностью при хранении, повышенной по меньшей мере на приблизительно 5%, по меньшей мере на приблизительно 10%, по меньшей мере на приблизительно 20%, по меньшей мере на приблизительно 30%, по меньшей мере на приблизительно 40%, по меньшей мере на приблизительно 50%, по меньшей мере на приблизительно 60%, по меньшей мере на приблизительно 70%, по меньшей мере на приблизительно 80%, по меньшей мере на приблизительно 90% и до приблизительно 100% по сравнению со стабильностью при хранении CD3-связывающего домена, содержащего вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 90, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 87. Стабильность при хранении можно определить после хранения CD3-связывающего домена в ФСБ при приблизительно 25°C. В одном варианте реализации CD3-связывающий домен стабилен при хранении в ФСБ при приблизительно 25°C в течение по меньшей мере приблизительно 6 суток, по меньшей мере приблизительно 10 суток или по меньшей мере приблизительно 13 суток и до приблизительно 90 суток.

В некоторых аспектах описанный в данном документе CD3-связывающий домен имеет уровень высокомолекулярных агрегатов, образуемых во время рекомбинантной экспрессии, который по меньшей мере на приблизительно 5%, по меньшей мере на приблизительно 10%, по меньшей мере на приблизительно 20% снижен, по меньшей мере приблизительно 30% снижен и до приблизительно 50% снижен по сравнению с уровнем высокомолекулярных агрегатов, образуемых во время рекомбинантной экспрессии, CD3-связывающего домена, содержащего вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 90, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 87.

Данное изобретение также относится к CD3-связывающему домену, который связывается с человеческим CD3 с EC₅₀, составляющей приблизительно 10 нМ или меньше. В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий домен согласно изобретению также может специфически связываться с CD3 яванского макака. Например, CD3-связывающий домен может связываться с CD3 яванского макака с EC₅₀, составляющей приблизительно 30 нМ или меньше.

Данное изобретение включает CD3-связывающий домен, который специфически связывается с человеческим CD3 и содержит вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина и вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, причем (а) вариабельная область легкой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность LCDR1 согласно SEQ ID NO: 94, аминокислотную последовательность LCDR2 согласно SEQ ID NO: 95 и аминокислотную последовательность LCDR3 согласно SEQ ID NO: 96, а вариабельная область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность HCDR1 согласно SEQ ID NO: 91, аминокислотную последовательность HCDR2 согласно SEQ ID NO: 92 и аминокислотную последовательность HCDR3 согласно SEQ ID NO: 93; или (b) вариабельная область легкой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность LCDR1 согласно SEQ ID NO: 202, аминокислотную последовательность LCDR2 согласно SEQ ID NO: 203 и аминокислотную последовательность LCDR3 согласно SEQ ID NO: 204, а вариабельная область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность HCDR1 согласно SEQ ID NO: 199, аминокислотную последовательность HCDR2 согласно SEQ ID NO: 200 и аминокислотную последовательность HCDR3 согласно SEQ ID NO: 201; и при этом CD3-связывающий домен имеет одно или более свойств, описанных в данном документе. Например, (i) средняя точка термоперехода CD3-связывающего домена (или белка, содержащего CD3-связывающий домен) составляет по меньшей мере приблизительно 54°C, по меньшей мере приблизительно 55°C, по меньшей мере приблизительно 56°C или по меньшей мере приблизительно 57°C и до приблизительно 72°C; (ii) CD3-связывающий домен (или белок, содержащий CD3-связывающий домен) стабилен при хранении в ФСБ при приблизительно 25°C в течение по меньшей мере приблизительно 6 суток, по меньшей мере приблизительно 10 суток или по меньшей мере приблизительно 13 суток и до приблизительно 90 суток; (iii) CD3-связывающий домен (или белок, содержащий CD3-связывающий домен) связывается с человеческим CD3 с EC₅₀, составляющей приблизительно 10 нМ или меньше; и (iv) CD3-связывающий домен (или белок, содержащий CD3-связывающий домен) связывается с CD3 яванского макака с EC₅₀, составляющей приблизительно 30 нМ или меньше.

Данное изобретение также относится к CD3-связывающему полипептиду, содержащему любой из описанных в данном документе CD3-связывающих доменов. В некоторых вариациях CD3-связывающий полипептид может содержать константную область иммуноглобулина. Эта константная область иммуноглобулина может содержать домены иммуноглобулина CH2 и CH3 из IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2 или IgD. В некоторых вариантах реализации константная область иммуноглобулина содержит CH2-домен человеческого IgG1, содержащий замены L234A, L235A, G237A и K322A, в соответствии с системой нумерации EU. В определенных вариантах реализации константная область иммуноглобулина содержит CH2-домен человеческого IgG1, содержащий одну или более замен L234A, L235A, G237A и K322A, в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий полипептид при связывании с белком CD3 на Т-клетке не индуцирует или индуцирует минимальное вы-

являемое высвобождение цитокинов из указанной Т-клетки. В определенных аспектах CD3-связывающий белок или полипептид демонстрирует сниженное высвобождение цитокинов у пациента по сравнению с высвобождением цитокинов при введении пациенту анти-CD3 антитела ОКТ3. В некоторых случаях CD3-связывающий полипептид может индуцировать активацию Т-клеток или пролиферацию Т-клеток.

В определенных аспектах CD3-связывающий полипептид дополнительно содержит второй связывающий домен. Второй связывающий домен может представлять собой одноцепочечный варибельный фрагмент (scFv). В некоторых вариантах реализации второй связывающий домен связывается или взаимодействует с опухолевым антигеном (например, PSMA, CD19, CD20, CD37, CD38, CD123, Her2, ROR1, RON, гликопротеиновым антигеном A33 (gpA33) или CEA).

Данное изобретение дополнительно включает CD3-связывающий полипептид, содержащий: (i) CD3-связывающий домен и (ii) второй связывающий домен. В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий полипептид содержит, в порядке от аминоконца к карбокси-концу или в порядке от карбокси-конца к аминоконцу, (i) CD3-связывающий домен, (ii) шарнирную область и (iii) константную область иммуноглобулина. В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий полипептид содержит, в порядке от аминоконца к карбокси-концу, (i) второй связывающий домен, (ii) шарнирную область, (iii) константную область иммуноглобулина, (iv) карбокси-концевой линкер и (v) CD3-связывающий домен. В других вариантах реализации CD3-связывающий полипептид содержит, в порядке от карбокси-конца к аминоконцу, (i) второй связывающий домен, (ii) шарнирную область, (iii) константную область иммуноглобулина, (iv) аминоконцевой линкер и (v) CD3-связывающий домен. В определенных вариациях первый и/или второй связывающий домен представляет собой scFv. Неограничивающие примеры карбокси-концевых и аминоконцевых линкеров включают гибкие линкеры, содержащие глицин-сериновые (например, (Gly4Ser)) повторы, и линкеры, полученные из (i) стволовой области лектина типа II С или (ii) шарнирной области иммуноглобулина. В определенных аспектах карбокси-концевой линкер (или аминоконцевой линкер) содержит или состоит из SEQ ID NO: 196. В некоторых аспектах данное изобретение относится к CD3-связывающему полипептиду (например, мультиспецифическому), в котором (i) CD3-связывающий домен содержит (a) варибельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и (b) варибельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3; а (ii) второй связывающий домен содержит (a) варибельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и (b) варибельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3.

Данное изобретение включает CD3-связывающий полипептид, который индуцирует перенаправленную Т-клеточную цитотоксичность (ПТКЦ). Например, CD3-связывающий полипептид может индуцировать ПТКЦ с EC₅₀, составляющей приблизительно 30 пМ или меньше. В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий полипептид не демонстрирует или демонстрирует минимальную активность антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности (АЗКЦ) и/или активности комплементзависимой цитотоксичности (КЗЦ). В определенных аспектах нулевую активность АЗКЦ и/или КЗЦ получают посредством мутаций в шарнирной области и константной области Ig (например, Fc).

CD3-связывающий полипептид может дополнительно содержать домен гетеродимеризации иммуноглобулина. В некоторых вариантах реализации домен гетеродимеризации иммуноглобулина содержит домен СН1 иммуноглобулина или домен СL иммуноглобулина. В некоторых аспектах CD3-связывающий полипептид представляет собой гетеродимерный CD3-связывающий белок, содержащий (i) первую полипептидную цепь, содержащую, в порядке от аминоконца к карбокси-концу или от карбокси-конца к аминоконцу, (a) CD3-связывающий домен, который специфически связывает человеческий CD3, (b) первую шарнирную область, (c) первую константную область иммуноглобулина и (d) первый домен гетеродимеризации иммуноглобулина; и (ii) вторую полипептидную цепь, содержащую, в порядке от аминоконца к карбокси-концу или от карбокси-конца к аминоконцу, (a') вторую шарнирную область, (b') вторую константную область иммуноглобулина и (c') второй домен гетеродимеризации иммуноглобулина, который отличается от первого домена гетеродимеризации иммуноглобулина первого одноцепочечного полипептида, причем первый и второй домены гетеродимеризации иммуноглобулина связываются друг с другом с образованием гетеродимера. В одном варианте реализации первый домен гетеродимеризации иммуноглобулина содержит домен СН1 иммуноглобулина, а второй домен гетеродимеризации иммуноглобулина содержит домен СL иммуноглобулина или первый домен гетеродимеризации иммуноглобулина содержит домен СL иммуноглобулина, а второй домен гетеродимеризации иммуноглобулина содержит домен СН1 иммуноглобулина. По меньшей мере одна из первой и второй константных областей иммуноглобулина могут содержать домены иммуноглобулина СН2 и СН3 из IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD или любой их комбинации; домен иммуноглобулина СН3 из IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE, IgM или любой их комбинации; или домены иммуноглобулина СН3 и СН4 из IgE, IgM или их комбинации. В некоторых аспектах вторая полипептидная цепь гетеродимерного CD3-связывающего белка может дополнительно содержать второй связывающий домен. В определенных вариантах реализации второй связывающий домен может быть аминоконцевым или карбокси-концевым относительно второй шарнирной области.

В некоторых вариациях CD3-связывающий полипептид может представлять собой биспецифическую одноцепочечную молекулу антитела, содержащую CD3-связывающий домен и второй связывающий домен, причем связывающие домены расположены в порядке VH CD3-VL CD3-второй связывающий домен VH-второй связывающий домен VL, или VL CD3-VH CD3-второй связывающий домен VH-второй связывающий домен VL, или второй связывающий домен VH-второй связывающий домен VL-VH CD3-VL CD3, или второй связывающий домен VH-второй связывающий домен VL-VL CD3-VH CD3. Данное изобретение также относится к выделенной молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей CD3-связывающий домен или CD3-связывающий полипептид, описанный в данном документе, или часть указанного CD3-связывающего домена или полипептида. В некоторых аспектах данное изобретение включает экспрессионный вектор, содержащий сегмент нуклеиновой кислоты, кодирующий CD3-связывающий домен или CD3-связывающий полипептид, описанный в данном документе, причем сегмент нуклеиновой кислоты функционально связан с регуляторными последовательностями, подходящими для экспрессии сегмента нуклеиновой кислоты в клетке-хозяине. В данное изобретение включена рекомбинантная клетка-хозяин, содержащая экспрессионный вектор.

Данное изобретение включает экспрессионный вектор, содержащий первую и вторую экспрессионные единицы, причем первая и вторая экспрессионные единицы соответственно содержат первый и второй сегменты нуклеиновой кислоты, кодирующие первую и вторую полипептидные цепи гетеродимерного CD3-связывающего полипептида, и при этом первый и второй сегменты нуклеиновой кислоты функционально связаны с регуляторными последовательностями, подходящими для экспрессии сегментов нуклеиновой кислоты в клетке-хозяине. Частью данного изобретения является рекомбинантная клетка-хозяин, содержащая экспрессионный вектор, содержащий первую и вторую экспрессионные единицы.

Данное изобретение дополнительно относится к способу получения CD3-связывающего полипептида, включающему: культивирование рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей описанный в данном документе экспрессионный вектор, в условиях, в которых происходит экспрессия сегмента нуклеиновой кислоты и, таким образом, получение CD3-связывающего полипептида. В некоторых вариантах реализации способ получения гетеродимерного CD3-связывающего белка включает: культивирование рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей первую и вторую экспрессионные единицы, причем первая и вторая экспрессионные единицы соответственно содержат первый и второй сегменты нуклеиновой кислоты, кодирующие первую и вторую полипептидные цепи гетеродимерного CD3-связывающего белка, при этом первый и второй сегменты нуклеиновой кислоты функционально связаны с регуляторными последовательностями, подходящими для экспрессии сегментов нуклеиновой кислоты в клетке-хозяине, и при этом указанное культивирование происходит в условиях, в которых происходит экспрессия первого и второго сегментов нуклеиновой кислоты, а кодируемые полипептидные цепи получают в виде гетеродимерного CD3-связывающего белка. Эти способы могут дополнительно включать выделение CD3-связывающего полипептида или гетеродимерного CD3-связывающего белка.

Данное изобретение включает фармацевтическую композицию, содержащую описанный в данном документе CD3-связывающий полипептид и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество. Данное изобретение также относится к способу индукции перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности (ПТКЦ) против клеток, экспрессирующих опухолеассоциированный антиген, включающему: приведение указанной экспрессирующей опухолеассоциированный антиген клетки в контакт с CD3-связывающим полипептидом, причем указанное приведение в контакт происходит в условиях, в которых индуцируется ПТКЦ против экспрессирующей опухолеассоциированный антиген клетки. Один аспект изобретения включает способ ингибирования роста опухоли у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества CD3-связывающего полипептида или фармацевтической композиции, описанных в данном документе. Данное изобретение включает способ лечения рака или аутоиммунного нарушения у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества CD3-связывающего полипептида или фармацевтической композиции, описанных в данном документе. Неограничивающие примеры рака, который можно лечить с помощью способов и CD3-связывающих полипептидов, описанных в данном документе, включают рак простаты, колоректальный рак, почечноклеточную карциному, рак мочевого пузыря, рак слюнной железы, рак поджелудочной железы, рак яичника, немелкоклеточный рак легкого, рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы), меланому, рак надпочечников, мантийноклеточную лимфому, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, неходжкинскую лимфому, острый миелоцитарный лейкоз (ОМЛ), В-лимфоидный лейкоз, бластное новообразование из плазмацитоидных дендритных клеток (БНПДК) и лейкоз ворсистых клеток.

Данное изобретение включает CD3-связывающий домен, который специфически связывается с человеческим CD3 и содержит SEQ ID NO: 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58 или 60. Данное изобретение также относится к CD3-связывающему белку, который представляет собой димер из двух идентичных полипептидов, причем каждый полипептид представляет собой любой из описанных в данном документе CD3-связывающих полипептидов.

Эти и другие варианты реализации и/или другие аспекты изобретения станут очевидны после изучения нижеприведенного подробного описания изобретения и прилагающихся графических материалов.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 (верхняя панель) представляет собой график, показывающий результаты определения методом проточной цитометрии связывания конструкций CD3-связывающего домена с Т-клетками Jurkat. По оси у показана средняя интенсивность флуоресценции (СИФ) связанных молекул на живых клетках. Концентрация (нМ) конструкций CD3-связывающего домена показана по оси х. В таблице (нижняя панель) приведены значения EC_{50} , полученные по данным графика.

Фиг. 2 (верхняя панель) представляет собой график, показывающий результаты определения методом проточной цитометрии связывания конструкций CD3-связывающего домена с субклоном линии Т-клеток Jurkat с более высокими уровнями экспрессии CD3. По оси у показана средняя интенсивность флуоресценции (СИФ) связанных молекул на живых клетках. Концентрация (нМ) конструкций CD3-связывающего домена показана по оси х. В таблице (нижняя панель) приведены значения EC_{50} , полученные по данным графика.

Фиг. 3 представляет собой график, показывающий результаты исследований методом дифференциальной сканирующей флуориметрии, проводимых для конструкций CD3-связывающего домена. На фигуре также приведены значения средней точки термоперехода (T_m), полученные по данным графика.

Фиг. 4 представляет собой график, показывающий результаты определения методом проточной цитометрии связывания конструкций CD3-связывающего домена с субклоном линии Т-клеток Jurkat с более высокими уровнями экспрессии CD3. По оси у показана средняя интенсивность флуоресценции (СИФ) связанных молекул на живых клетках. Концентрация (нМ) конструкций CD3-связывающего домена показана по оси х.

Фиг. 5 представляет собой график, показывающий результаты определения методом проточной цитометрии связывания конструкций CD3-связывающего домена с субклоном линии Т-клеток Jurkat с более высокими уровнями экспрессии CD3. По оси у показана средняя интенсивность флуоресценции (СИФ) связанных молекул на живых клетках. Концентрация (нМ) конструкций CD3-связывающего домена показана по оси х.

Фиг. 6 (верхняя панель) представляет собой график, показывающий результаты определения методом анализа высвобождения хрома-51 эффективности биспецифических анти-PSMA и анти-CD3 конструкций в отношении индукции мишень-зависимой Т-клеточной цитотоксичности человеческими МКПК за 4 ч против клеток С4-2В. По оси у показан процент специфического лизиса по сравнению с контрольным общим лизисом. Концентрация (пМ) конструкций CD3-связывающего домена показана по оси х. В таблице (нижняя панель) приведены значения EC_{50} , полученные по данным графика.

Фиг. 7А и 7В представляют собой графики, показывающие результаты определения методом проточной цитометрии связывания конструкций CD3-связывающего домена с Т-клетками яванского макака. На каждом графике по оси у показана средняя интенсивность флуоресценции (СИФ) связанных молекул на живых клетках. Концентрация (нМ) конструкций CD3-связывающего домена показана на каждом графике по оси х.

Фиг. 8А и 8В представляют собой графики, показывающие результаты определения методом анализа высвобождения хрома-51 эффективности конструкций CD3-связывающего домена в отношении индукции мишень-зависимой Т-клеточной цитотоксичности МКПК яванского макака за 4 ч против клеток С4-2В. На каждом графике по оси у показан процент специфического лизиса по сравнению с контрольным общим лизисом. Концентрация (пМ) конструкций CD3-связывающего домена показана на каждом графике по оси х.

Фиг. 9 представляет собой график, показывающий результаты определения методом проточной цитометрии связывания биспецифических анти-CD37 и анти-CD3 конструкций с Т-клетками яванского макака. По оси у показана средняя интенсивность флуоресценции (СИФ) связанных молекул на живых клетках. Концентрация (нМ) конструкций CD3-связывающего домена показана по оси х. TSC394 DY относится к конструкции TSC394, включающей замены E86D и F87Y.

Фиг. 10 (верхняя панель) представляет собой график, показывающий результаты определения методом анализа высвобождения хрома-51 эффективности биспецифических анти-CD37 и анти-CD3 конструкций в отношении индукции мишень-зависимой Т-клеточной цитотоксичности МКПК яванского макака за 4 ч против клеток Ramos. На каждом графике по оси у показан процент специфического лизиса по сравнению с контрольным общим лизисом. Концентрация (пМ) конструкций CD3-связывающего домена показана на каждом графике по оси х. В таблице (нижняя панель) приведены значения EC_{50} , полученные по данным графика. TSC394 DY относится к конструкции TSC394, включающей замены E86D и F87Y.

Фиг. 11 представляет собой график, показывающий результаты определения стабильности при хранении конструкций CD3-связывающего домена при 25°C в течение количества суток, указанного по оси х. CAS105 представляет собой контрольную конструкцию, содержащую CD3-связывающий домен DRA222.

Фиг. 12 представляет собой график, показывающий результаты определения сывороточной стабильности в человеческой сыворотке для анти-ROR1 x анти-CD3 биспецифических молекул в течение количества суток, указанного по оси х.

На фиг. 13 показано выравнивание аминокислотных последовательностей DRA222 scFv (SEQ ID NO: 85), TSC455 scFv (SEQ ID NO: 83) и TSC456 scFv (SEQ ID NO: 84). Последовательности этих конструкций также приведены в табл. 14.

Фиг. 14 представляет собой график, показывающий результаты определения сывороточной концентрации анти-PSMA X анти-CD3 биспецифических связывающих молекул у мышей BALB/c в виде функции от времени. Результаты выражены в виде средней сывороточной концентрации (мкг/мл) в динамике по времени для каждой из групп обработки. Каждая точка показывает среднее значение (+ стандартное отклонение) для отдельных животных.

Фиг. 15 представляет собой таблицу, в которой показано сравнение фармакокинетических параметров анти-PSMA X анти-CD3 биспецифических связывающих молекул у мышей BALB/c.

Фиг. 16 представляет собой график, показывающий результаты определения сывороточной концентрации анти-ROR1 X анти-CD3 биспецифических связывающих молекул у мышей NSG в виде функции от времени. Результаты выражены в виде средней сывороточной концентрации (мкг/мл) в динамике по времени для каждой из групп обработки.

Фиг. 17A и 17B представляют собой таблицы, в которых показано сравнение фармакокинетических параметров анти-ROR1 X анти-CD3 биспецифических связывающих молекул у мышей NSG. На фиг. 17A показаны оценочные фармакокинетические параметры, рассчитанные с использованием НКА для В/В дозирования, с выборочным взятием образцов и постоянным взвешиванием для каждой группы обработки. На фиг. 17B показаны оценочные фармакокинетические параметры, определенные с помощью применения 2-компарментной В/В модели с 1/Y взвешиванием для каждой группы обработки.

Фиг. 18 представляет собой график, показывающий результаты анализа действия анти-ROR1 X анти-CD3 биспецифических связывающих молекул на рост ксенографтной опухоли MDA-MB-231.

Фиг. 19 представляет собой график, показывающий результаты анализа действия анти-ROR1 X анти-CD3 биспецифических связывающих молекул на рост ксенографтной опухоли Kasumi-2. Результаты показаны для донора человеческих Т-клеток #336.

Подробное описание изобретения

В данном изобретении предложены связывающие домены, которые специфически связываются с CD3 (кластер дифференцировки 3), и связывающие молекулы (например, полипептиды и белки), которые специфически связываются с CD3. Эти связывающие молекулы могут специфически связываться с CD3 и по меньшей мере с одной другой мишенью. В некоторых вариантах реализации описанная в данном документе CD3-связывающая молекула имеет благоприятный профиль возможности производства, характеризуемый одним или более свойствами, описанными ниже. В определенных вариантах реализации для конструирования CD3-связывающих молекул с улучшенными и новыми свойствами использовали CDR из анти-CD3 антитела Cris7. Соответственно, данное изобретение относится к гуманизированным анти-CD3 связывающим доменам и белкам, имеющим улучшенные свойства (например, термостабильность, стабильность при хранении, сывороточное время полужизни, сниженное образование высокомолекулярных агрегатов) по сравнению с другими анти-CD3 связывающими доменами и белками. В некоторых аспектах изобретения CD3-связывающая молекула является термостабильной. Например, указанная молекула может иметь улучшенную термостабильность по сравнению с другой CD3-связывающей молекулой (например, DRA222). CD3-связывающие молекулы могут характеризоваться высоким выходом при получении и длительным сывороточным временем полужизни и длительным полупериодом хранения. Кроме того, описанные в данном документе CD3-связывающие молекулы могут характеризоваться низким риском возникновения нежелательных побочных явлений при введении субъекту. Например, CD3-связывающие молекулы могут приводить к высвобождению низких уровней цитокинов.

В настоящем описании любой диапазон концентраций, диапазон процентных значений, диапазон соотношений или диапазон целых чисел следует понимать как включающий значение любого целого числа в указанном диапазоне и, когда это целесообразно, его дробные значения (такие как одна десятая и одна сотая целого числа), если не указано иное. Следует понимать, что в контексте данного документа форма единственного числа относится к "одному или более" из пронумерованных компонентов, если не указано иное. Применение альтернативного варианта (например, "или") следует понимать как означающее один, оба или любую комбинацию альтернативных вариантов. В контексте данного документа термины "включать" и "содержать" используются как синонимы. Кроме того, следует понимать, что полипептиды, содержащие различные комбинации компонентов (например, доменов или областей) и заместителей, описанных в данном документе, раскрыты в настоящей заявке в той же степени, как если бы каждый полипептид был приведен индивидуальным образом. Таким образом, выбор конкретных компонентов отдельных полипептидов входит в объем настоящего изобретения.

Все документы или части документов, цитируемые в данном тексте, включая, но не ограничиваясь этим, патенты, заявки на патенты, статьи, книги и трактаты, в полном объеме явным образом включены в данный документ посредством ссылки в любых целях. В случае, если в одном или более из включенных документов или частей документов приведено определение термина, которое противоречит определению данного термина в настоящей заявке, приоритет имеет определение, приведенное в этой заявке. При этом упоминание любого ссылочного материала, статьи, публикации, патента, публикации патента и заявки на

патент, цитируемых в данном документе, не является и не должно восприниматься как признание, или любая форма предположения того, что они составляют действительный уровень техники или формируют часть общеизвестного уровня техники в любой стране мира.

В контексте данного документа "связывающий домен" или "связывающая область" относится к домену, области, части или участку белка, полипептида, олигопептида или пептиду, или антителу, или связывающему домену, полученному из антитела, которые обладают способностью специфически распознавать и связывать молекулу-мишень, такую как антиген, лиганд, рецептор, субстрат или ингибитор (например, CD3). Примеры связывающих доменов включают одноцепочечные переменные области антитела (например, доменные антитела, sFv, scFv, scFab), эктодомены рецепторов и лиганды (например, цитокины, хемокины). В определенных вариантах реализации связывающий домен содержит или состоит из антигенсвязывающего участка (например, содержащего переменную последовательность тяжелой цепи и переменную последовательность легкой цепи или три определяющие комплементарности области (CDR) легкой цепи и три CDR тяжелой цепи из антитела, помещенные в альтернативные каркасные области (FR) (например, человеческие FR, необязательно содержащие одну или более аминокислотных замен). Известно множество видов анализа для определения связывающих доменов согласно настоящему изобретению, которые специфически связывают конкретную мишень, включая вестерн-блоттинг, ELISA, скрининг библиотек фагового дисплея и анализ взаимодействия BIACORE®. В контексте данного документа CD3-связывающий полипептид может иметь "первый связывающий домен" и, необязательно, "второй связывающий домен". В определенных вариантах реализации "первый связывающий домен" представляет собой CD3-связывающий домен в формате антитела или антитело-подобного белка или домена. В определенных вариантах реализации, включающих содержание как первого, так и второго связывающих доменов, второй связывающий домен представляет собой домен, связывающий опухолевый антиген. В других вариантах реализации второй связывающий домен представляет собой второй CD3-связывающий домен. В других вариантах реализации второй связывающий домен представляет собой связывающий домен, отличный от домена, связывающего опухолевый антиген.

Связывающий домен или белок "специфически связывает" мишень, если он связывает мишень с аффинностью или $K_{\text{асс}}$ (т.е. равновесной константой ассоциации конкретного взаимодействия связывания, измеряемой в единицах $1/M$), равной или превышающей $10^5 M^{-1}$, в то же время не демонстрируя существенного связывания других компонентов, присутствующих в исследуемом образце. Связывающие домены могут быть классифицированы как "высокоаффинные" связывающие домены и "низкоаффинные" связывающие домены. К "высокоаффинным" связывающим доменам относятся связывающие домены с $K_{\text{асс}}$, составляющей по меньшей мере $10^7 M^{-1}$, по меньшей мере $10^8 M^{-1}$, по меньшей мере $10^9 M^{-1}$, по меньшей мере $10^{10} M^{-1}$, по меньшей мере $10^{11} M^{-1}$, по меньшей мере $10^{12} M^{-1}$ или по меньшей мере $10^{13} M^{-1}$. К "низкоаффинным" связывающим доменам относятся связывающие домены с $K_{\text{асс}}$, составляющей до $10^7 M^{-1}$, до $10^6 M^{-1}$, до $10^5 M^{-1}$. В альтернативном варианте аффинность можно определить с помощью равновесной константы диссоциации ($K_{\text{дисс}}$) конкретного взаимодействия связывания, измеряемой в единицах M (например, от $10^{-5} M$ до $10^{-13} M$). Аффинность содержащих связывающие домены полипептидов и одноцепочечных полипептидов в соответствии с настоящим изобретением можно легко определить, используя традиционные методы (см., например, Scatchard et al. (1949) Ann. N.Y. Acad. Sci. 51:660; и патенты США № 5283173, 5468614 или эквивалентные ссылки). В данной области техники "CD3" известен как мультибелковый комплекс из шести цепей (см., например, Abbas and Lichtman, 2003; Janeway et al., p. 172 и 178, 1999), которые являются субъединицами комплекса Т-клеточного рецептора. У млекопитающих субъединицами CD3 комплекса Т-клеточного рецептора являются цепь CD3 γ , цепь CD35, две цепи CD3 ϵ и гомодимер из цепей CD3 ζ . Цепи CD3 γ , CD3 δ и CD3 ϵ представляют собой высоко родственные белки клеточной поверхности из суперсемейства иммуноглобулинов, содержащие один домен иммуноглобулина. Трансмембранные области цепей CD3 γ , CD3 δ и CD3 ϵ заряжены отрицательно, что позволяет этим цепям связываться с положительно заряженными цепями Т-клеточных рецепторов. Внутриклеточные хвосты каждой из цепей CD3 γ , CD3 δ и CD3 ϵ содержат один консервативный мотив, известный как иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив или ITAM, тогда как каждая цепь CD3 ζ содержит три таких мотива. Считается, что ITAM важны для способности комплекса ТКР передавать сигналы. CD3, используемые в настоящем изобретении, могут происходить от различных видов животных, включая человека, обезьяну, мышь, крысу или других млекопитающих. В контексте данного документа "консервативной заменой" в данной области техники считается замена одной аминокислоты другой аминокислотой, которая имеет аналогичные свойства. Примеры консервативных замен хорошо известны в данной области техники (см., например, WO 97/09433, страница 10, опубликованную 13 марта 1997 г.; Lehninger, Biochemistry, Second Edition; Worth Publishers, Inc. NY:NY (1975), pp.71-77; Lewin, Genes IV, Oxford University Press, NY и Cell Press, Cambridge, MA (1990), p. 8). В определенных вариантах реализации консервативная замена включает замену лейцина на серин.

В контексте данного документа термин "производное" относится к модификации одного или более аминокислотных остатков пептида химическими или биологическими способами, с применением или без применения фермента, например, путем гликозилирования, алкилирования, ацилирования, образования

сложного эфира или образования амида.

В контексте данного документа полипептидная или аминокислотная последовательность, "полученная из" указанного полипептида или белка, относится к происхождению полипептида. В определенных вариантах реализации полипептидная или аминокислотная последовательность, полученная из конкретной последовательности (иногда называемой "стартовой" или "родительской" последовательностью), имеет аминокислотную последовательность, которая практически идентична стартовой последовательности или ее части, причем указанная часть состоит из по меньшей мере 10-20 аминокислот, по меньшей мере 20-30 аминокислот или по меньшей мере 30-50 аминокислот, или по меньшей мере 50-150 аминокислот, или которая каким-либо другим образом идентифицируется специалистом в данной области техники, как происходящая от стартовой последовательности. Например, связывающий домен может быть получен из антитела, например, Fab, F(ab')₂, Fab', scFv, однодоменного антитела (sdAb) и т. д. Полипептиды, полученные из другого полипептида, могут содержать одну или более мутаций по отношению к стартовому полипептиду, например, один или более аминокислотных остатков, замещенных другим аминокислотным остатком, или содержать одну или более вставок или делеций аминокислотных остатков. Полипептид может содержать аминокислотную последовательность, которая имеет неестественное происхождение. Такие вариации обязательно имеют менее 100% идентичности или сходства последовательности со стартовым полипептидом. В одном варианте реализации вариант имеет аминокислотную последовательность, имеющую от приблизительно 60% до менее чем 100% идентичности или сходства аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью стартового полипептида. В другом варианте реализации вариант имеет аминокислотную последовательность, имеющую от приблизительно 75% до менее чем 100%, от приблизительно 80% до менее чем 100%, от приблизительно 85% до менее чем 100%, от приблизительно 90% до менее чем 100%, от приблизительно 95% до менее чем 100% идентичности или сходства аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью стартового полипептида.

В контексте данного документа, если не указано иное, позиция аминокислотного остатка в вариативной области молекулы иммуноглобулина нумеруется в соответствии с критерием IMGT (Brochet, X, et al, Nucl. Acids Res. (2008) 36, W503-508), позиция аминокислотного остатка в константной области молекулы иммуноглобулина нумеруется в соответствии с номенклатурой EU (Ward et al., 1995 Therap. Immunol. 2:77-94). Система нумерации по Kabat (Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed. Bethesda, MD: Public Health Service, National Institutes of Health (1991)) является альтернативной системой, используемой для обозначения позиции аминокислотного остатка в вариативной области молекулы иммуноглобулина. В контексте данного документа термин "димер" относится к биологическому соединению, которое состоит из двух субъединиц, связанных друг с другом посредством одной или более форм внутримолекулярных сил, включая ковалентные связи (например, дисульфидные связи) и другие взаимодействия (например, электростатические взаимодействия, солевые мостики, водородное связывание и гидрофобные взаимодействия), и является стабильным в соответствующих условиях (например, в физиологических условиях, в водном растворе, подходящем для экспрессии, очистки и/или хранения рекомбинантных белков, или в условиях для денатурирующего и/или невосстановительного электрофореза). В контексте данного документа "гетеродимер" или "гетеродимерный белок" относится к димеру, образованному двумя разными полипептидами. Гетеродимер не включает антитело, образуемое четырьмя полипептидами (т.е. двумя легкими цепями и двумя тяжелыми цепями). В контексте данного документа "гомодимер" или "гомодимерный белок" относится к димеру, образованному двумя идентичными полипептидами.

В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий полипептид содержит, в порядке от аминоконца к карбокси-концу или в порядке от карбокси-конца к аминоконцу, (i) второй связывающий домен, (ii) шарнирную область, (iii) константную область иммуноглобулина, (iv) карбокси-концевой линкер (или аминоконцевой линкер) и (v) CD3-связывающий домен. Согласно данному документу и в зависимости от контекста "шарнирная область" или "шарнир" относится к полипептидной области между связывающим доменом (например, CD3-связывающим доменом или вторым связывающим доменом) и константной областью иммуноглобулина. Согласно данному документу и в зависимости от контекста "линкер" может относиться к (1) полипептидной области между областями V_H и V_L в одноцепочечном Fv (scFv) или (2) полипептидной области между константной областью иммуноглобулина и вторым связывающим доменом в CD3-связывающем полипептиде, содержащем два связывающих домена. Полипептидная область между константной областью иммуноглобулина и CD3-связывающим доменом в CD3-связывающем полипептиде, содержащем два связывающих домена, также может называться "карбокси-концевым линкером" или "амино-концевым линкером". Неограничивающие примеры карбокси-концевых и аминоконцевых линкеров включают гибкие линкеры, содержащие глицин-сериновые повторы, и линкеры, полученные из (a) междоменной области трансмембранного белка (например, трансмембранного белка типа I); (b) стволовой области лектина типа II C; или (c) шарнирной области иммуноглобулина. Неограничивающие примеры шарнирных областей и линкеров приведены в табл. 1 и 2. В некоторых вариантах реализации "линкер" обеспечивает спейсерную функцию, совместимую с взаимодействием двух связывающих поддоменов таким образом, что получаемый в результате полипептид сохраняет аффин-

ность специфического связывания с той же самой молекулой-мишенью, что и антитело, которое содержит такие же переменные области легкой и тяжелой цепи. В определенных вариантах реализации линкер состоит из от пяти до приблизительно 35 аминокислот, например, от приблизительно 15 до приблизительно 25 аминокислот. "Шарнирная область иммуноглобулина дикого типа" относится к аминокислотным последовательностям верхней и нижней шарнирной области природного происхождения, расположенным между и соединяющим домены CH1 и CH2 (в случае IgG, IgA и IgD) или расположенным между и соединяющим домены CH1 и CH3 (в случае IgE и IgM), находящиеся в тяжелой цепи антитела. В определенных вариантах реализации последовательность шарнирной области иммуноглобулина дикого типа является человеческой и может содержать шарнирную область человеческого IgG. "Измененная шарнирная область иммуноглобулина дикого типа" или "измененная шарнирная область иммуноглобулина" относится к (а) шарнирной области иммуноглобулина дикого типа, имеющей до 30% аминокислотных изменений (например, до 25%, 20%, 15%, 10% или 5% аминокислотных замен или делеций), или (б) части шарнирной области иммуноглобулина дикого типа, имеющей длину от приблизительно 5 аминокислот (например, приблизительно 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот) до приблизительно 120 аминокислот (например, имеющей длину от приблизительно 10 до приблизительно 40 аминокислот или от приблизительно 15 до приблизительно 30 аминокислот, или от приблизительно 15 до приблизительно 20 аминокислот, или от приблизительно 20 до приблизительно 25 аминокислот), имеющей до приблизительно 30% аминокислотных изменений (например, до приблизительно 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% аминокислотных замен или делеций или их комбинацию) и содержащей основную шарнирную область IgG, описанную в US 2013/0129723 и US 2013/0095097.

В контексте данного документа термин "гуманизированный" относится к процессу, направленному на то, чтобы сделать антитело или связывающие белки и полипептиды иммуноглобулина, полученные от нечеловеческого вида (например, мыши или крысы), менее иммуногенными для людей, но при этом сохраняющими антигенсвязывающие свойства оригинального антитела, используя методы генетической инженерии. В некоторых вариантах реализации связывающий (-ие) домен (-ы) антитела или связывающих белков и полипептидов иммуноглобулина (например, переменные области легкой и тяжелой цепи, Fab, scFv) являются гуманизированными. Нечеловеческие связывающие домены можно гуманизировать, используя методы, известные как прививание CDR (Jones et al., *Nature* 321:522 (1986)), и их варианты, включая "реконструирование" (Verhoeven et al., 1988 *Science* 239:1534-1536; Riechmann et al., 1988 *Nature* 332:323-337; Tempest et al., *Bio/Technol.* 1991 9:266-271), "гиперхимеризацию" (Queen et al., 1989 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:10029-10033; Co et al., 1991 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:2869-2873; Co et al., 1992 *J. Immunol.* 148:1149-1154) и "венирование" (Mark et al., "Derivation of therapeutically active humanized and veneered anti-CD18 antibodies." In: Metcalf B.W., Dalton B.J., eds. *Cellular adhesion: molecular definition to therapeutic potential.* New York: Plenum Press, 1994: 291-312). В случае получения из нечеловеческого источника, другие области антитела или связывающих белков и полипептидов иммуноглобулина, такие как шарнирная область и домены константной области, также могут быть гуманизованы.

В контексте данного документа "домен димеризации иммуноглобулина" или "домен гетеродимеризации иммуноглобулина" относится к домену иммуноглобулина полипептидной цепи, который преимущественно взаимодействует или связывается с отличным доменом иммуноглобулина второй полипептидной цепи, причем взаимодействие разных доменов гетеродимеризации иммуноглобулина обеспечивает существенный вклад или эффективно стимулирует гетеродимеризацию первой и второй полипептидных цепей (т.е. образование димера между двумя разными полипептидными цепями, который также называется "гетеродимером"). Взаимодействие между доменами гетеродимеризации иммуноглобулина "обеспечивает существенный вклад или эффективно стимулирует" гетеродимеризацию первой и второй полипептидных цепей, если наблюдается статистически значимое снижение димеризации между первой и второй полипептидными цепями в отсутствие домена гетеродимеризации иммуноглобулина первой полипептидной цепи и/или домена гетеродимеризации иммуноглобулина второй полипептидной цепи. В определенных вариантах реализации, если первая и вторая полипептидные цепи экспрессируются вместе, по меньшей мере 60%, от по меньшей мере приблизительно 60% до приблизительно 70%, от по меньшей мере приблизительно 70% до приблизительно 80%, от по меньшей мере приблизительно 80% до приблизительно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% первой и второй полипептидных цепей образуют гетеродимеры друг с другом. Типовые домены гетеродимеризации иммуноглобулина включают CH1-домен иммуноглобулина, CL-домен иммуноглобулина (например, изотипы Sc и Sl) или их производные, включая CH1- и CL-домены и измененные (или мутированные) CH1- и CL-домены иммуноглобулина, как предложено в данном документе. "Константная область иммуноглобулина" или "константная область" является термином, который согласно определению в данном документе относится к пептидной или полипептидной последовательности, которая соответствует или получена из части или всего из одного или более доменов константной области. В определенных вариантах реализации константная область иммуноглобулина соответствует или получена из части или всего из одного или более доменов константной области, но не всех доменов константной области служащего источником антитела. В определенных вариантах реализации константная область содержит домены CH2 и CH3 IgG,

например, домены CH2 и CH3 IgG1. В определенных вариантах реализации константная область не содержит домен CH1. В определенных вариантах реализации домены константной области, составляющие константную область, являются человеческими. В некоторых вариантах реализации (например, в некоторых вариациях CD3-связывающего белка или полипептида) домены константной области слитого белка согласно данному изобретению не имеют или имеют минимальные эффекторные функции антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности (АЗКЦ) и активации комплемента и комплементзависимой цитотоксичности (КЗЦ), сохраняя при этом способность связывать некоторые Fc-рецепторы (такие как FcRn, неонатальный Fc-рецептор) и сохраняя относительно длительное время полужизни *in vivo*. В других вариациях слитый белок согласно данному изобретению содержит константные домены, которые сохраняют такую эффекторную функцию одной или обеих из АЗКЦ и КЗЦ. В определенных вариантах реализации связывающий домен согласно данному изобретению слит с константной областью человеческого IgG1, причем константная область IgG1 содержит одну или более из следующих мутированных аминокислот: лейцин в позиции 234 (L234), лейцин в позиции 235 (L235), глицин в позиции 237 (G237), глутамат в позиции 318 (E318), лизин в позиции 320 (K320), лизин в позиции 322 (K322) или любую их комбинацию (нумерация в соответствии с EU). Например, одна или более из этих аминокислот могут быть заменены на аланин. В дополнительном варианте реализации Fc-домен IgG1 содержит каждую из L234, L235, G237, E318, K320 и K322 (в соответствии с нумерацией EU), мутированную на аланин (т.е. L234A, L235A, G237A, E318A, K320A и K322A соответственно), и также, необязательно, мутацию N297A (т.е. практически устраняя гликозилирование CH2-домена).

"Fc-область" или "Fc-домен" относится к полипептидной последовательности, соответствующей или полученной из части исходного антитела, которая отвечает за связывание с рецепторами антитела на клетках и компонентом комплемента C1q. Fc означает "кристаллизующийся фрагмент", фрагмент антитела, который легко образует белковый кристалл. Разные белковые фрагменты, которые были изначально описаны с помощью протеолитического расщепления, могут определять общую структуру белка иммуноглобулина. Согласно исходному определению в литературе, Fc-фрагмент состоит из дисульфидно-связанных шарнирных областей тяжелой цепи, доменов CH2 и CH3. Однако недавно данный термин был применен к одиночной цепи, состоящей из CH3, CH2 и по меньшей мере части шарнирной области, что достаточно для образования дисульфидно-связанного димера со второй такой цепью. Обзор структуры и функции иммуноглобулина смотрите в Putnam, *The Plasma Proteins*, Vol. V (Academic Press, Inc., 1987), pp. 49-140; и Padlan, *Mol. Immunol.* 31:169-217, 1994. В контексте данного документа термин Fc включает варианты последовательностей природного происхождения.

В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий белок содержит белковый каркас, в целом описанный, например, в публикациях заявок на патент США № 2003/0133939, 2003/0118592 и 2005/0136049. CD3-связывающий белок может содержать, в порядке от amino-конца к карбокси-концу, первый связывающий домен, шарнирную область и константную область иммуноглобулина. В других вариантах реализации CD3-связывающий белок содержит белковый каркас, в целом описанный, например, в публикации заявки на патент США № 2009/0148447. CD3-связывающий белок может содержать, в порядке от карбокси-конца к amino-концу, константную область иммуноглобулина, шарнирную область и первый связывающий домен. CD3-связывающие полипептиды и белки, описанные в данном документе, могут включать каркас мультиспецифического связывающего белка. Мультиспецифические связывающие белки и полипептиды, в которых используются каркасы, описаны, например, в публикации заявки согласно РСТ № WO 2007/146968, публикации заявки на патент США № 2006/0051844, публикации заявки согласно РСТ № WO 2010/040105, публикации заявки согласно РСТ № WO 2010/003108, патенте США № 7166707 и патенте США № 8409577, которые все в полном объеме включены в данный документ посредством ссылки. CD3-связывающий белок может содержать два связывающих домена (домены могут быть сконструированы так, чтобы специфически связывать одну и ту же или разные мишени), две шарнирные области и константную область иммуноглобулина. CD3-связывающий белок может представлять собой гомодимерный белок, содержащий два идентичных дисульфидно-связанных полипептида. В контексте данного документа "стволовая область" лектина типа II C относится к части внеклеточного домена лектина типа II C, расположенной между подобным лектину С-типа доменом (CTLD; например, сходным с CTLD рецепторов естественных клеток-киллеров) и трансмембранным доменом. Например, в человеческой молекуле CD94 (номер доступа GenBank № AAC50291.1, PRI 30 ноября, 1995) внеклеточный домен соответствует аминокислотным остаткам 34-179, тогда как CTLD соответствует аминокислотным остаткам 61-176. Соответственно, стволовая область человеческой молекулы CD94 содержит аминокислотные остатки 34-60, которые находятся между мембраной и CTLD (см. Boyington et al., *Immunity* 10:75, 1999; в отношении описания других стволовых областей см. также Beavil et al., *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 89:753, 1992; и Figdor et al., *Nature Rev. Immunol.* 2:77, 2002). Эти лектины типа II C также могут содержать от шести до 10 соединительных аминокислот между стволовой областью и трансмембранной областью CTLD. В другом примере 233-аминокислотный человеческий белок NKG2A (номер доступа GenBank № P26715.1, PRI 15 июня, 2010) содержит трансмембранный домен в пределах аминокислот 71-93 и внеклеточный домен в пределах аминокислот 94-233. CTLD состоит из аминокислот 119-231, а стволовая область содержит аминокислоты 99-116, которые фланкируются соединениями

из пяти и двух аминокислот. Другие лектины типа II C, а также их внеклеточные лиганд-связывающие домены, междоменные или стволовые области и CTLD, известны в данной области техники (см., например, номера доступа GenBank № NP_001993.2; AAN07037.1, PRI 15 июля, 2006; NP_001773.1, PRI 20 июня, 1010; AAL65234.1, PRI 17 января, 2002, и CAA04925.1, PRI 14 ноября, 2006, в отношении последовательностей человеческих CD23, CD69, CD72, NKG2A и NKG2D и их описаний соответственно). В контексте данного документа "междоменная область" трансмембранного белка (например, трансмембранного белка типа I) относится к части внеклеточного домена трансмембранного белка, расположенной между двумя соседними доменами. Примеры междоменных областей включают области, связывающие соседние домены Ig представителей суперсемейства иммуноглобулинов (например, шарнирная область иммуноглобулина из IgG, IgA, IgD или IgE; область, связывающая домены IgV и IgC2 в CD2; или область, связывающая домены IgV и IgC в CD80 или CD86). Другим примером междоменной области является область, связывающая не-Ig домен и домен IgC2 из CD22, связывающий сиаловую кислоту Ig-подобный лектин типа I.

Полипептидная область, "полученная из" стволовой области лектина типа II C или "полученная из" междоменной области трансмембранного белка (например, шарнирной области иммуноглобулина), относится к от приблизительно пяти до приблизительно 150-аминокислотной последовательности, от приблизительно 5 до приблизительно 100-аминокислотной последовательности, от приблизительно 5 до приблизительно 50-аминокислотной последовательности, от приблизительно 5 до приблизительно 40-аминокислотной последовательности, от приблизительно 5 до приблизительно 30-аминокислотной последовательности, от приблизительно 5 до приблизительно 25-аминокислотной последовательности, от приблизительно 5 до приблизительно 20-аминокислотной последовательности, от приблизительно 10 до приблизительно 25-аминокислотной последовательности, от приблизительно 10 до приблизительно 20-аминокислотной последовательности, от приблизительно 8 до приблизительно 20-аминокислотной последовательности, от приблизительно 9 до приблизительно 20-аминокислотной последовательности, от приблизительно 10 до приблизительно 20-аминокислотной последовательности, от приблизительно 11 до приблизительно 20-аминокислотной последовательности, от приблизительно 12 до приблизительно 20-аминокислотной последовательности, от приблизительно 13 до приблизительно 20-аминокислотной последовательности, от приблизительно 14 до приблизительно 20-аминокислотной последовательности, от приблизительно 15 до приблизительно 20-аминокислотной последовательности или приблизительно 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20-аминокислотной последовательности, при этом она вся или по меньшей мере ее часть содержит (i) последовательность дикого типа стволовой области или междоменной области; (ii) фрагмент последовательности дикого типа стволовой области или междоменной области; (iii) полипептид, имеющий по меньшей мере 80%, 85%, 90% или 95% идентичности аминокислотной последовательности с любым из (i) или (ii); или (iv) любым из (i) или (ii), в которых одна, две, три, четыре или пять аминокислот имеют делецию, вставку или замену или любую их комбинацию, например, одно или более изменений являются заменами или одна или более мутаций включают только одну делецию. В некоторых вариантах реализации производное стволовой области более устойчиво к протеолитическому расщеплению по сравнению с последовательностью стволовой области дикого типа, такое как полученные из от приблизительно восьми до приблизительно 20 аминокислот NKG2A, NKG2D, CD23, CD64, CD72 или CD94.

В контексте данного документа "соединительные аминокислоты" или "соединительные аминокислотные остатки" относятся к одному или более (например, приблизительно 2-10) аминокислотным остаткам между двумя соседними областями или доменами полипептида, например, между шарнирной и соседней константной областью иммуноглобулина, или между шарнирным и соседним связывающим доменом, или между пептидным линкером и соседним варибельным доменом иммуноглобулина или соседней константной областью иммуноглобулина. Соединительные аминокислоты могут являться результатом конструкции полипептида (например, аминокислотные остатки, появившиеся в результате использования сайта рестрикционного фермента во время конструирования молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид). В контексте данного документа выражение "линкер между CH3 и CH1 или CL" относится к одному или более (например, приблизительно 2-12, приблизительно 2-10, приблизительно 4-10, приблизительно 5-10, приблизительно 6-10, приблизительно 7-10, приблизительно 8-10, приблизительно 9-10, приблизительно 8-12, приблизительно 9-12 или приблизительно 10-12) аминокислотным остаткам между С-концом домена CH3 (например, CH3 дикого типа или мутированного CH3) и N-концом домена CH1 или домена CL (например, Ск).

В контексте данного документа термин "нуждающийся пациент" или "нуждающийся субъект" относится к пациенту или субъекту, подверженному риску или страдающему от заболевания, нарушения или патологического состояния, которое поддается лечению или уменьшению интенсивности с помощью CD3-связывающего белка или полипептида или его композиции, предложенных в данном документе. В контексте данного документа термин "фармацевтически приемлемый" относится к молекулярным соединениям и композициям, которые в общем случае не вызывают аллергических или других серьезных нежелательных реакций при введении способами, хорошо известными в данной области техники. Молекулярные соединения и композиции, утвержденные регуляторным органом федерального правительства или прави-

тельства штата или перечисленные в Фармакопее США или других общепризнанных фармакопеях для применения на животных и, в частности, на людях, считаются "фармацевтически приемлемыми".

В контексте данного документа термин "промотор" относится к области ДНК, вовлеченной в связывание РНК-полимеразы для инициации транскрипции. В контексте данного документа термины "нуклеиновая кислота", "молекула нуклеиновой кислоты" или "полинуклеотид" относятся к дезоксирибонуклеотидам или рибонуклеотидам и их полимерам в одно- или двухцепочечной форме. В отсутствие специального ограничения данные термины включают нуклеиновые кислоты, содержащие аналоги природных нуклеотидов, которые имеют такие же связывающие свойства, что и стандартная нуклеиновая кислота, и метаболизируются сходным образом с нуклеотидами природного происхождения. Если не указано иное, конкретная нуклеотидная последовательность, безусловно, также включает консервативно модифицированные варианты (например, замены вырожденными кодонами) и комплементарные последовательности, а также явным образом указанные последовательности. В частности, замены вырожденными кодонами можно осуществить, создавая последовательности, в которых третья позиция одного или более выбранных (или всех) кодонов замещена остатками со смешанными основаниями и/или остатками дезоксирибозина (Batzer et al. (1991) *Nucleic Acid Res.* 19:5081; Ohtsuka et al. (1985) *J. Biol. Chem.* 260:2605-2608; Casol et al. (1992); Rossolini et al. (1994) *Mol. Cell. Probes* 8:91-98). Термин нуклеиновая кислота взаимозаменяемо используется с геном, кДНК и мРНК, кодируемой геном. В контексте данного документа подразумевается, что термины "нуклеиновая кислота", "молекула нуклеиновой кислоты" или "полинуклеотид" включают молекулы ДНК (например, кДНК или геномной ДНК), молекулы РНК (например, мРНК), аналоги ДНК или РНК, созданные с применением нуклеотидных аналогов, а также их производные, фрагменты и гомологи.

Термин "экспрессия" относится к биосинтезу продукта, кодируемого нуклеиновой кислотой. Например, в случае сегмента нуклеиновой кислоты, кодирующего представляющий интерес полипептид, экспрессия включает транскрипцию сегмента нуклеиновой кислоты в мРНК и трансляцию мРНК в один или более полипептидов. Термины "экспрессионная единица" и "экспрессионная кассета" взаимозаменяемо используются в данном документе и обозначают сегмент нуклеиновой кислоты, кодирующий представляющий интерес полипептид и способный обеспечивать экспрессию сегмента нуклеиновой кислоты в клетке-хозяине. Экспрессионная единица, как правило, содержит промотор транскрипции, открытую рамку считывания, кодирующую представляющий интерес полипептид, и терминатор транскрипции, которые находятся в функциональной конфигурации. Кроме промотора и терминатора транскрипции экспрессионная единица может дополнительно содержать другие сегменты нуклеиновой кислоты, такие как, например, энхансер или сигнал полиаденилирования. В контексте данного документа термин "экспрессионный вектор" относится к молекуле нуклеиновой кислоты, линейной или кольцевой, содержащей одну или более экспрессионных единиц. Кроме одной или более экспрессионных единиц экспрессионный вектор также может содержать дополнительные сегменты нуклеиновой кислоты, такие как, например, одна или более точек начала репликации или один или более селективных маркеров. Экспрессионные векторы в общем случае получены из плазмидной или вирусной ДНК или же могут содержать элементы обоих.

В контексте данного документа термин "идентичность последовательности" относится к взаимосвязи между двумя или более полинуклеотидными последовательностями или между двумя или более полипептидными последовательностями. Если позиция в одной последовательности занята таким же нуклеотидным основанием или аминокислотным остатком, что и в соответствующей позиции сравниваемой последовательности, говорят, что последовательности являются "идентичными" в этой позиции. Процент "идентичности последовательностей" рассчитывают путем определения числа позиций, в которых в обеих последовательностях находится идентичное нуклеотидное основание или аминокислотный остаток, для получения числа "идентичных" позиций. Затем число "идентичных" позиций делят на общее число позиций в окне сравнения и умножают на 100, чтобы получить процент "идентичности последовательностей". Процент "идентичности последовательностей" определяют, сравнивая две последовательности, выровненные оптимальным образом в окне сравнения. Окно сравнения для нуклеотидных последовательностей может иметь длину, составляющую, например, по меньшей мере 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 или 1000 или более нуклеиновых кислот. Окно сравнения для полипептидных последовательностей может иметь длину, составляющую, например, по меньшей мере 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 300 или более аминокислот. В целях оптимального выравнивания последовательностей для сравнения часть полинуклеотидной или полипептидной последовательности в окне сравнения может содержать добавления или делеции, называемые гэпами, тогда как стандартная последовательность остается неизменной. Оптимальным выравниванием является выравнивание, которое даже при наличии гэпов дает наибольшее возможное число "идентичных" позиций между стандартной и сравниваемой последовательностями. Процент "идентичности последовательностей" между двумя последовательностями можно определить, используя версию программы "BLAST 2 Sequences", доступную от Национального центра биотехнологической информации с 1 сентября 2004 г. и включающую программы BLASTN (для сравнения нуклеотидных последовательностей) и BLASTP (для сравнения полипептидных

последовательностей), которые основаны на алгоритме Karlin and Altschul (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90(12):5873-5877, 1993). При применении "BLAST 2 Sequences" можно использовать параметры, которые были параметрами по умолчанию на 1 сентября 2004 г., с размером слова (3), штрафом за открытие гэпа (11), штрафом за продление гэпа (1), штрафом за закрытие гэпа (50), ожидаемым значением (10) и любым другим необходимым параметром, включая, но не ограничиваясь, опцию матрицы. Считается, что две нуклеотидные или аминокислотные последовательности имеют "по существу аналогичную идентичность последовательностей" или "существенную идентичность последовательностей", если две последовательности имеют по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей по отношению друг к другу. В контексте данного документа "полипептид" или "полипептидная цепь" представляет собой единообразное, линейное и непрерывное упорядочение ковалентно связанных аминокислот. Он не включает две полипептидные цепи, связанные друг с другом нелинейным образом, например, посредством межцепочечной дисульфидной связи (например, половина молекулы иммуноглобулина, в которой легкая цепь связана с тяжелой цепью дисульфидной связью). Полипептиды могут иметь или образовывать одну или более внутривнутренних дисульфидных связей. В отношении описанных в данном документе полипептидов ссылка на аминокислотные остатки, соответствующие определяемым SEQ ID NO, включает посттрансляционные модификации таких остатков. В контексте данного документа выражение "CD3-связывающий белок" может взаимозаменяемо использоваться с "CD3-связывающим полипептидом". Такие молекулы специфически связываются с белком кластера дифференцировки 3 (CD3) (например, человеческим CD3).

"Белок" представляет собой макромолекулу, содержащую одну или более полипептидных цепей". Белок также может содержать непептидные компоненты, такие как углеводные группы. Углеводы и другие непептидные заместители могут быть добавлены к белку клеткой, в которой вырабатывается белок, и варьируются в зависимости от типа клетки. В данном документе определение белков приведено в терминах их аминокислотных скелетных структур; заместители, такие как углеводные группы, в общем случае не указаны, но, несмотря на это, могут присутствовать. Белок может представлять собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. В некоторых вариантах реализации белок также может представлять собой молекулу scFv-Fc-scFv, димер scFv-scFv или диатело.

Термины "амино-концевой" и "карбокси-концевой" используются в данном документе для обозначения позиций в полипептидах. Там, где контекст это позволяет, эти термины используют в отношении конкретной последовательности или части полипептида для обозначения близости или относительного положения. Например, некоторая последовательность, расположенная в полипептиде карбокси-терминально к стандартной последовательности, расположена вблизи карбокси-конца стандартной последовательности, но не обязательно в карбокси-конце всего полипептида. "Т-клеточный рецептор" (ТКР) представляет собой молекулу, находящуюся на поверхности Т-клетки, которая, наряду с CD3, в общем случае отвечает за распознавание антигенов, связанных с молекулами главного комплекса гистосовместимости (ГКГС). Он состоит из дисульфидно-связанного гетеродимера из высоковариабельных α и β цепей в большинстве Т-клеток. В других Т-клетках экспрессируется альтернативный рецептор, состоящий из вариабельных γ и δ цепей. Каждая цепь ТКР является представителем суперсемейства иммуноглобулинов и содержит один N-концевой вариабельный домен иммуноглобулина, один константный домен иммуноглобулина, трансмембранную область и короткий цитоплазматический хвост в С-конце (см. Abbas and Lichtman, Cellular and Molecular Immunology (5th Ed.), Editor: Saunders, Philadelphia, 2003; Janeway et al., Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 4th Ed., Current Biology Publications, p. 148, 149 и 172, 1999). Используемые в настоящем изобретении ТКР могут быть получены от различных видов животных, включая человека, мышь, крысу или других млекопитающих.

В контексте данного документа "комплекс ТКР" относится к комплексу, образуемому путем ассоциации цепей CD3 с другими цепями ТКР. Например, комплекс ТКР может состоять из цепи CD3 γ , цепи CD3 δ , двух цепей CD3 ϵ , гомодимера из цепей CD3 ζ , цепи ТКР α и цепи ТКР β . В альтернативном варианте комплекс ТКР может состоять из цепи CD3 γ , цепи CD3 δ , двух цепей CD3 ϵ гомодимера из цепей CD3 ζ цепи ТКР γ и цепи ТКР δ .

В контексте данного документа "компонент комплекса ТКР" относится к цепи ТКР (т.е. ТКР α , ТКР β , ТКР γ или ТКР δ), цепи CD3 (т.е. CD3 γ , CD3 δ , CD3 ϵ или CD3 ζ или комплексу, образованному двумя или более цепями ТКР или цепями CD3 (например, комплексу ТКР α и ТКР β , комплексу ТКР γ и ТКР δ , комплексу CD3 ϵ и CD3 δ , комплексу CD3 γ и CD3 ϵ , или суб-ТКР комплексу ТКР α , ТКР β , CD3 γ , CD3 δ и двух цепей CD3 ϵ). В контексте данного документа "антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность" и "АЗКЦ" относится к клеточноопосредованному процессу, в котором неспецифические цитотоксические клетки, которые экспрессируют Fc γ R (например, моноциты, такие как естественные клетки-киллеры (NK) и макрофаги), распознают связанное антитело (или другой белок, способный связывать Fc γ R) на клетке-мишени и впоследствии приводят к лизису клетки-мишени. В принципе, любую эффекторную клетку с активирующим Fc γ R можно стимулировать в отношении опосредования АЗКЦ. Основными клетками в отношении опосредования АЗКЦ являются NK-клетки, которые экспрес-

сируют только FcγRIII, тогда как моноциты, в зависимости от состояния их активации, локализации или дифференциации, могут экспрессировать FcγRI, FcγRII и FcγRIII. Обзор экспрессии FcγR в гемопоэтических клетках смотрите, например, в Ravetch et al., 1991, *Annu. Rev. Immunol.*, 9:457-92.

Термин "имеющий АЗКЦ-активность", используемый в данном документе в отношении полипептида или белка, означает, что полипептид или белок (например, содержащий шарнирную область иммуноглобулина и константную область иммуноглобулина, содержащую домены CH2 и CH3, например полученные из IgG (например, IgG1)) способен опосредовать антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (АЗКЦ) посредством связывания с цитолитическим Fc-рецептором (например, FcγRIII) на цитолитической иммунной эффекторной клетке, экспрессирующей Fc-рецептор (например, НК-клетке).

В контексте данного документа "комплементзависимая цитотоксичность" и "КЗЦ" относится к процессу, в котором компоненты в нормальной сыворотке ("комплемент") вместе с антителом или другим C1q-комплемент-связывающим белком, связанным с клеткой-мишенью, демонстрируют лизис клетки-мишени, экспрессирующей антиген-мишень. Комплемент состоит из группы сывороточных белков, которые действуют совместно и в определенной последовательности при выполнении своей функции. В контексте данного документа термины "классический путь комплемента" и "классическая система комплемента" являются синонимами и относятся к конкретному пути активации комплемента. Для инициации классического пути необходимы комплексы антиген-антитело и он включает активацию, происходящую в определенном порядке, девяти основных белковых компонентов, обозначаемых от C1 до C9. Продуктом нескольких этапов процесса активации является фермент, который катализирует следующий этап. Этот каскад обеспечивает амплификацию и активацию больших количеств комплемента посредством относительно небольшого исходного сигнала. Термин "имеющий КЗЦ-активность", используемый в данном документе в отношении полипептида или белка, означает, что полипептид или белок (например, содержащий шарнирную область иммуноглобулина и константную область иммуноглобулина, содержащую домены CH2 и CH3, например, полученные из IgG (например, IgG1)) способен опосредовать комплементзависимую цитотоксичность (КЗЦ) посредством связывания белка комплемента C1q и активации классической системы комплемента.

В контексте данного документа "перенаправленная Т-клеточная цитотоксичность" и "ПТКЦ" относится к опосредованному Т-клетками процессу, в котором цитотоксическая Т-клетка привлекается к клетке-мишени с помощью мультиспецифического белка, который способен специфически связывать как цитотоксическую Т-клетку, так и клетку-мишень, и при этом возникает мишень-зависимый Т-клеточный ответ против клетки-мишени. Описанные в данном документе полипептиды и белки, содержащие CD3-связывающие домены, и опухолевые антигенсвязывающие домены способны к ПТКЦ. В контексте данного документа термины "лечение" или "уменьшение интенсивности" относятся к терапевтическому лечению или к профилактическому/превентивному лечению. Лечение является терапевтическим, если происходит улучшение по меньшей мере одного симптома заболевания у индивида, проходящего лечение, или лечение может замедлить ухудшение прогрессирующего заболевания у индивида или предотвратить появление дополнительных связанных с основным заболеванием.

В контексте данного документа термин "терапевтически эффективное количество (или доза)" или "эффективное количество (или доза)" конкретной связывающей молекулы или соединения относится к количеству соединения, достаточному для снижения интенсивности одного или более симптомов заболевания, лечение которого проводят, статистически значимым образом или статистически значимого улучшения органной функции. Когда речь идет об индивидуальном активном ингредиенте, вводимом одним, терапевтически эффективная доза относится к одному этому ингредиенту. Когда речь идет о комбинации, терапевтически эффективная доза относится к комбинированным количествам активных ингредиентов, которые приводят к терапевтическому действию при введении последовательно или одновременно (в одном составе или параллельно в разных составах).

В контексте данного документа термины "трансформация", "трансфекция" и "трандукция" относятся к переносу нуклеиновой кислоты (т.е. нуклеотидного полимера) в клетку. В контексте данного документа термин "генетическая трансформация" относится к переносу и включению ДНК, в особенности рекомбинантной ДНК, в клетку. Перенесенная нуклеиновая кислота может быть внесена в клетку с помощью экспрессионного вектора.

В контексте данного документа термин "вариант" или "варианты" относится к нуклеиновой кислоте или полипептиду, отличающимся от стандартной нуклеиновой кислоты или полипептида, но сохраняющим их важные свойства. В общем случае варианты являются очень сходными и во многих областях идентичными со стандартной нуклеиновой кислотой или полипептидом. Например, вариант может демонстрировать по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98% или по меньшей мере приблизительно 99% идентичности последовательности по сравнению с активной частью полноразмерной стандартной нуклеиновой кислоты или полипептида.

Термины "вариабельная область легкой цепи" (также называемая "вариабельным доменом легкой цепи" или "VL" или V_L) и "вариабельная область тяжелой цепи" (также называемая "вариабельным доменом тяжелой цепи" или "VH" или V_H) относятся к вариабельной связывающей области из легкой и тяжелой цепи антитела соответственно. Вариабельные связывающие области состоят из дискретных, хорошо определенных подобластей, известных как "определяющие комплементарность области" (CDR) и "каркасные области" (FR), в общем случае расположенных в порядке FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 от amino-конца к карбокси-концу. В одном варианте реализации FR гуманизированы. Термин "CL" относится к "константной области легкой цепи иммуноглобулина" или "константной области легкой цепи", т.е. константной области из легкой цепи антитела. Термин "CH" относится к "константной области тяжелой цепи иммуноглобулина" или "константной области тяжелой цепи", которая дополнительно делится, в зависимости от изоформа антитела, на домены CH1, CH2 и CH3 (IgA, IgD, IgG) или CH1, CH2, CH3 и CH4 (IgE, IgM). "Fab" (антигенсвязывающий фрагмент) представляет собой часть антитела, которая связывается с антигенами и содержит вариабельную область и CH1-домен тяжелой цепи, связанные с легкой цепью с помощью межцепочечной дисульфидной связи.

В настоящем изобретении описаны связывающие домены, которые специфически связывают CD3 (например, человеческий CD3), а также полипептиды и белки, содержащие эти связывающие домены. В некоторых вариантах реализации CD3-связывающие белки и полипептиды содержат второй связывающий домен, который может связываться с опухолевым антигеном (например, PSMA, CD19, CD20, CD37, CD38, CD123, Her2, ROR1, RON, гликопротеиновым антигеном A33 (gpA33) или CEA). Полипептиды и белки, содержащие связывающие домены согласно данному изобретению, могут дополнительно содержать константные области иммуноглобулина, линкерные пептиды, шарнирные области, домены димеризации/гетеродимеризации иммуноглобулина, соединительные аминокислоты, метки и т.д. Эти компоненты раскрытых полипептидов и белков более подробно описаны ниже. Кроме того, CD3-связывающие белки и полипептиды, описанные в данном документе, могут находиться в форме антитела или слитого белка в любом из множества разных форматов (например, слитый белок может находиться в форме CD3-связывающей биспецифической или мультиспецифической молекулы). Неограничивающие примеры биспецифических молекул включают молекулу scFv-Fc-scFv. Некоторые биспецифические молекулы, как правило, содержат или состоят из scFv противоопухолевого антигена, связанного с анти-CD3 scFv, и, как правило, не содержат другие последовательности, такие как константная область иммуноглобулина. В других вариантах реализации CD3-связывающий белок представляет собой диатело.

CD3-связывающий белок в соответствии с настоящим изобретением в общем случае содержит по меньшей мере одну CD3-связывающую полипептидную цепь, содержащую (а) CD3-связывающий домен, приведенный в данном документе. В определенных вариациях CD3-связывающий полипептид дополнительно содержит (b) шарнирную область, расположенную карбокси-терминально к CD3-связывающему домену, и (c) константную область иммуноглобулина. В дополнительных вариациях ROR1-связывающий полипептид дополнительно содержит (d) карбокси-концевой линкер, расположенный карбокси-терминально к константной области иммуноглобулина, и (e) второй связывающий домен, расположенный карбокси-терминально к карбокси-концевому линкеру.

В других вариациях CD3-связывающий полипептид содержит (b) шарнирную область, расположенную amino-терминально к CD3-связывающему домену, и (c) подобласть иммуноглобулина, расположенную amino-терминально к шарнирной области. В некоторых вариациях CD3-связывающий полипептид содержит (b) шарнирную область, расположенную карбокси-терминально к CD3-связывающему домену, и (c) подобласть иммуноглобулина, расположенную карбокси-терминально к шарнирной области. В некоторых вариантах реализации CD3-связывающие полипептиды способны к гомодимеризации, как правило, путем дисульфидного связывания, посредством константной области и/или шарнирной области иммуноглобулина (например, посредством константной области иммуноглобулина, содержащей домены CH2 и CH3 IgG и шарнирную область IgG). Таким образом, в определенных вариантах реализации настоящего изобретения два идентичных одноцепочечных CD3-связывающих полипептида гомодимеризуются с образованием димерного CD3-связывающего белка. В других вариантах реализации CD3-связывающий полипептид содержит домен гетеродимеризации, способный к гетеродимеризации с отличным доменом гетеродимеризации во второй, неидентичной полипептидной цепи. В определенных вариациях вторая полипептидная цепь для гетеродимеризации содержит второй связывающий домен. Соответственно, в определенных вариантах реализации настоящего изобретения две неидентичные полипептидные цепи, одна из которых содержит CD3-связывающий домен, а вторая необязательно содержит второй связывающий домен, димеризуются с образованием гетеродимерного CD3-связывающего белка. Примеры типов гетеродимеров включают описанные в US 2013/0095097 и US 2013/0129723.

В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий домен, белок или полипептид конъюгирован с лекарственным или токсическим соединением. CD3-связывающие полипептиды, белки и различные их компоненты, используемые в настоящем изобретении, дополнительно описаны ниже.

Как указано выше, данное изобретение относится к связывающим доменам, которые специфически связывают CD3 (например, человеческий CD3). CD3-связывающий домен может содержать аминокислотные последовательности, приведенные в табл. 14. В некоторых вариантах реализации CD3-связыва-

ющий полипептид или белок содержит сигнальную последовательность. Данное изобретение также включает CD3-связывающие домены и белки, содержащие или кодируемые любой из последовательностей, приведенных в табл. 14, за исключением сигнальных последовательностей, которые являются частью этих последовательностей. CD3-связывающие домены и полипептиды, их внутренние обозначения и их последовательности обобщены в табл. 15. В некоторых случаях CD3-связывающие домены согласно изобретению содержат аминокислотные замены. Например, TSC370 имеет аминокислотную последовательность TSC342, в которой остаток глицина в позиции 27 в соответствии с системой нумерации IMGT замещен тирозином. В определенных вариантах реализации данное изобретение относится к CD3-связывающему домену, который специфически связывается с человеческим CD3 и содержит варируемую область легкой цепи иммуноглобулина и варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина; при этом варируемая область легкой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность, которая (a) по меньшей мере на приблизительно 93% идентична, по меньшей мере на приблизительно 95% идентична, по меньшей мере на приблизительно 97% идентична, по меньшей мере на приблизительно 98% идентична или по меньшей мере на приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности в SEQ ID NO: 88; или (b) по меньшей мере на приблизительно 94% идентична, по меньшей мере на приблизительно 95% идентична, по меньшей мере на приблизительно 97% идентична, по меньшей мере на приблизительно 98% идентична или по меньшей мере на приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности в SEQ ID NO: 89; и при этом варируемая область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на приблизительно 82% идентична, по меньшей мере на приблизительно 85% идентична, по меньшей мере на приблизительно 87% идентична, по меньшей мере на приблизительно 90% идентична, по меньшей мере на приблизительно 92% идентична, по меньшей мере на приблизительно 95% идентична, по меньшей мере на приблизительно 97% идентична, по меньшей мере на приблизительно 98% идентична или по меньшей мере на приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности в SEQ ID NO: 86. CD3-связывающий домен может содержать аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на приблизительно 87% идентична, по меньшей мере на приблизительно 90% идентична, по меньшей мере на приблизительно 92% идентична, по меньшей мере на приблизительно 95% идентична, по меньшей мере на приблизительно 97% идентична, по меньшей мере на приблизительно 98% идентична или по меньшей мере на приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности в SEQ ID NO: 83 или SEQ ID NO: 84. CD3-связывающий домен может содержать или состоять из SEQ ID NO: 83 или SEQ ID NO: 84. В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий домен содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на приблизительно 87% идентична, по меньшей мере на приблизительно 90% идентична, по меньшей мере на приблизительно 92% идентична, по меньшей мере на приблизительно 95% идентична, по меньшей мере на приблизительно 97% идентична, по меньшей мере на приблизительно 98% идентична, по меньшей мере на приблизительно 99% идентична или на 100% идентична аминокислотной последовательности в SEQ ID NO: 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58 или 60.

В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий домен может содержать варируемую область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность LCDR1, которая отличается от SEQ ID NO: 94 по меньшей мере одной аминокислотной заменой, аминокислотную последовательность LCDR2, которая отличается от SEQ ID NO: 95 по меньшей мере одной аминокислотной заменой, и аминокислотную последовательность LCDR3, которая отличается от SEQ ID NO: 96 по меньшей мере одной аминокислотной заменой, и варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность HCDR1, которая отличается от SEQ ID NO: 91 по меньшей мере одной аминокислотной заменой, аминокислотную последовательность HCDR2, которая отличается от SEQ ID NO: 92 по меньшей мере одной аминокислотной заменой, и аминокислотную последовательность HCDR3, которая отличается от SEQ ID NO: 93 по меньшей мере одной аминокислотной заменой. В других вариантах реализации CD3-связывающий домен может содержать варируемую область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность LCDR1, которая отличается от SEQ ID NO: 202 по меньшей мере одной аминокислотной заменой, аминокислотную последовательность LCDR2, которая отличается от SEQ ID NO: 203 по меньшей мере одной аминокислотной заменой, и аминокислотную последовательность LCDR3, которая отличается от SEQ ID NO: 204 по меньшей мере одной аминокислотной заменой, и варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность HCDR1, которая отличается от SEQ ID NO: 199 по меньшей мере одной аминокислотной заменой, аминокислотную последовательность HCDR2, которая отличается от SEQ ID NO: 200 по меньшей мере одной аминокислотной заменой, и аминокислотную последовательность HCDR3, которая отличается от SEQ ID NO: 201 по меньшей мере одной аминокислотной заменой. Аминокислотная последовательность CDR CD3-связывающего домена может отличаться от указанной последовательности по меньшей мере одной аминокислотной заменой. По меньшей мере одна аминокислотная замена может быть консервативной или неконсервативной аминокислотной заменой. В некоторых вариантах реализации LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 и/или HCDR3 отличаются от вышеперечисленных последовательностей CDR

на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот. В определенных вариантах реализации CDR согласно настоящему изобретению содержит приблизительно одной или более (например, приблизительно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) вставок, приблизительно одной или более (например, приблизительно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) делеций, приблизительно одной или более (например, приблизительно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) аминокислотных замен (например, консервативных аминокислотных замен или неконсервативных аминокислотных замен) или комбинацию вышеуказанных изменений по сравнению с последовательностью CDR известного моноклонального антитела.

При описании аминокислотных замен в данном изобретении позиция аминокислотного остатка в вариательной области молекулы иммуноглобулина обычно пронумерована с использованием системы IMGT (Brochet X. et al., Nucl. Acids Res. (2008) 36, W503-508). В некоторых вариантах реализации аминокислотный остаток в позиции 52 вариательной области легкой цепи иммуноглобулина CD3-связывающего домена представляет собой аргинин и/или аминокислотный остаток в позиции 53 вариательной области легкой цепи иммуноглобулина CD3-связывающего домена представляет собой триптофан. Аминокислотный остаток в позиции 27 вариательной области тяжелой цепи иммуноглобулина CD3-связывающего домена может представлять собой тирозин. В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий домен содержит одно или более из следующего: (a) аминокислотный остаток в позиции 9 вариательной области тяжелой цепи иммуноглобулина представляет собой пролин; (b) аминокислотный остаток в позиции 53 вариательной области тяжелой цепи иммуноглобулина представляет собой изолейцин; и (c) аминокислотный остаток в позиции 21 вариательной области легкой цепи иммуноглобулина представляет собой метионин. Аминокислотный остаток в позиции 87 вариательной области легкой цепи иммуноглобулина CD3-связывающего домена может представлять собой тирозин. Аминокислотный остаток в позиции 86 вариательной области тяжелой цепи иммуноглобулина CD3-связывающего домена может представлять собой аспарагиновую кислоту. В одном варианте реализации аминокислотный остаток в позиции 86 вариательной области легкой цепи иммуноглобулина CD3-связывающего домена представляет собой аспарагиновую кислоту, а аминокислотный остаток в позиции 87 вариательной области легкой цепи иммуноглобулина CD3-связывающего домена представляет собой тирозин. В определенных вариантах реализации CD3-связывающий домен содержит гуманизированные области VL и/или VH иммуноглобулина. Методы гуманизации областей VL и VH иммуноглобулина известны в данной области техники и обсуждаются, например, в публикации заявки на патент США № 2006/0153837. В определенных аспектах CD3-связывающий домен может содержать вариательную область легкой цепи иммуноглобулина и вариательную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которые содержат каркасные области, и по меньшей мере одна из вариательной области легкой цепи иммуноглобулина и вариательной области тяжелой цепи иммуноглобулина может быть гуманизирована. В одном варианте реализации вариательная область легкой цепи иммуноглобулина содержит каркасные области на основании аминокислотной последовательности человеческой зародышевой линии IGKV3D-20*1. В другом варианте реализации вариательная область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит каркасные области на основании аминокислотной последовательности человеческой зародышевой линии IGHV1-69*02. В некоторых аспектах вариательная область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит каркасные области на основании аминокислотной последовательности человеческой зародышевой линии IGHV1-2*02 (H7), IGHV1-46*02 (H8), IGHV1-3*01(H9) или IGHV1-69*02 (H10). Вариательная область легкой цепи иммуноглобулина может содержать каркасные области на основании аминокислотной последовательности человеческой зародышевой линии IGKV3-11*01 (L4), IGKV1-33*01 (L5), IGKV1-39*01 (L7) или IGKV3D-20*1 (L8).

Данное изобретение относится к CD3-связывающим доменам, которые имеют улучшенные свойства по сравнению с CD3-связывающим доменом DRA222. DRA222 имеет вариательную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 90, и вариательную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 87. DRA222 описан в WO 2013/158856. В этом изобретении DRA222 иногда называют TSC311 или TSC312. Fc DRA222 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. Данное изобретение включает CD3-связывающий домен (или белок, содержащий указанный домен), который имеет термостабильность, повышенную по меньшей мере на 10% по сравнению с термостабильностью CD3-связывающего домена, содержащего вариательную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 90, и вариательную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 87. Средняя точка термоперехода (Tm) CD3-связывающего домена (или белка, содержащего указанный домен) может быть повышена по меньшей мере на приблизительно 3°C, по меньшей мере на приблизительно 4°C, по меньшей мере на приблизительно 5°C или по меньшей мере на приблизительно 6°C и до приблизительно 20°C по сравнению с Tm CD3-связывающего домена, содержащего вариательную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 90, и вариательную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 87. Средняя точка термоперехода CD3-связывающего домена (или белка, содержащего указанный домен) может составлять по меньшей мере приблизительно 54°C, по меньшей мере приблизительно 55°C, по меньшей мере приблизительно 56°C или по меньшей мере приблизительно 57°C и до приблизительно 72°C. Термостабильность или среднюю точку термоперехода CD3-связывающего домена (или белка, содержащего указанный домен) можно определить с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии или дифференциальной сканирующей флуориметрии.

Описанный в данном документе CD3-связывающий домен (или белок, содержащий указанный домен) может характеризоваться стабильностью при хранении, повышенной по меньшей мере на приблизительно 5%, по меньшей мере на приблизительно 10%, по меньшей мере на приблизительно 20%, по меньшей мере на приблизительно 30%, по меньшей мере на приблизительно 40%, по меньшей мере на приблизительно 50%, по меньшей мере на приблизительно 60%, по меньшей мере на приблизительно 70%, по меньшей мере на приблизительно 80%, по меньшей мере на приблизительно 90% и до приблизительно 100% по сравнению со стабильностью при хранении CD3-связывающего домена, содержащего переменную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 90, и переменную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 87. Стабильность при хранении можно определить после хранения CD3-связывающего домена (или белка, содержащего указанный домен) в ФСБ при приблизительно 25°C. В одном варианте реализации CD3-связывающий домен (или белок, содержащий указанный домен) стабилен при хранении в ФСБ при приблизительно 25°C в течение по меньшей мере приблизительно 6 суток, по меньшей мере приблизительно 10 суток или по меньшей мере приблизительно 13 суток и до приблизительно 90 суток.

В некоторых аспектах описанный в данном документе CD3-связывающий домен (или белок, содержащий указанный домен) имеет уровень высокомолекулярных агрегатов, образуемых во время рекомбинантной экспрессии, который по меньшей мере на приблизительно 5%, по меньшей мере на приблизительно 10%, по меньшей мере на приблизительно 20% снижен, по меньшей мере приблизительно 30% снижен и до приблизительно 50% снижен по сравнению с уровнем высокомолекулярных агрегатов, образуемых во время рекомбинантной экспрессии CD3-связывающего домена, содержащего переменную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 90, и переменную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 87. Данное изобретение также относится к CD3-связывающему домену, который связывается с человеческим CD3 с EC₅₀, составляющей приблизительно 10 нМ или меньше. CD3-связывающий домен согласно изобретению может специфически связываться как с человеческим CD3, так и с CD3 яванского макака. Например, CD3-связывающий домен может связываться с CD3 яванского макака с EC₅₀, составляющей приблизительно 30 нМ или меньше. Связывание с CD3 яванского макака позволяет тестировать анти-CD3 терапевтические средства на отличных от человека приматах. Данное изобретение включает CD3-связывающий домен, который специфически связывается с человеческим CD3 и содержит переменную область легкой цепи иммуноглобулина и переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, причем переменная область легкой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность LCDR1 согласно SEQ ID NO: 94, аминокислотную последовательность LCDR2 согласно SEQ ID NO: 95 и аминокислотную последовательность LCDR3 согласно SEQ ID NO: 96, а переменная область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность HCDR1 согласно SEQ ID NO: 91, аминокислотную последовательность HCDR2 согласно SEQ ID NO: 92 и аминокислотную последовательность HCDR3 согласно SEQ ID NO: 93; и при этом CD3-связывающий домен имеет одно или более свойств, описанных в данном документе. Например, (i) средняя точка термоперехода CD3-связывающего домена (или белка, содержащего CD3-связывающий домен) составляет по меньшей мере приблизительно 54°C, по меньшей мере приблизительно 55°C, по меньшей мере приблизительно 56°C или по меньшей мере приблизительно 57°C и до приблизительно 72°C; (ii) CD3-связывающий домен (или белок, содержащий CD3-связывающий домен) стабилен при хранении в ФСБ при приблизительно 25°C в течение по меньшей мере приблизительно 6 суток, по меньшей мере приблизительно 10 суток или по меньшей мере приблизительно 13 суток и до приблизительно 90 суток; (iii) CD3-связывающий домен (или белок, содержащий CD3-связывающий домен) связывается с человеческим CD3 с EC₅₀, составляющей приблизительно 10 нМ или меньше; и (iv) CD3-связывающий домен (или белок, содержащий CD3-связывающий домен) связывается с CD3 яванского макака с EC₅₀, составляющей приблизительно 30 нМ или меньше.

В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий полипептид при связывании с белком CD3 на Т-клетке не индуцирует или индуцирует минимальное выявляемое высвобождение цитокинов из указанной Т-клетки. В определенных аспектах CD3-связывающий белок или полипептид демонстрирует сниженное высвобождение цитокинов у пациента по сравнению с высвобождением цитокинов при введении пациенту анти-CD3 антитела ОКТ3. CD3-связывающий полипептид может индуцировать активацию Т-клеток или пролиферацию Т-клеток.

В определенных вариантах реализации CD3-связывающий белок может содержать один или более дополнительных связывающих доменов (например, второй связывающий домен), которые связывают мишень, отличную от CD3. Эти другие связывающие домены могут содержать, например, конкретный цитокин или молекулу, которые нацеливают связывающий домен полипептида на конкретный тип клеток, токсин, дополнительный клеточный рецептор, антитело и т.д.

В определенных вариантах реализации CD3-связывающий полипептид, используемый с описанных в данном документе способах и композициях, представляет собой биспецифическую одноцепочечную молекулу, содержащую CD3-связывающий домен и второй связывающий домен. В некоторых вариантах реализации CD3- и/или второй связывающий домен получен из антитела и содержит переменную тяжелую цепь (VH) и переменную легкую цепь (VL). Эти связывающие домены и переменные цепи

могут быть расположены в любом порядке, при котором сохраняется некоторая степень связывания с мишенью(ями). Например, переменные домены могут быть расположены в таком порядке, как VH ВСД-VL ВСД-VH CD3-VL CD3; VL ВСД-VH ВСД-VH CD3-VL CD3; VH ВСД-VL ВСД-VL CD3-VH CD3; VL ВСД-VH ВСД-VL CD3-VH CD3; VH CD3-VL CD3-VH ВСД-VL ВСД; VL CD3-VH CD3-VL ВСД-VH ВСД; VH CD3-VL CD3-VL ВСД-VH ВСД; или VL CD3-VH CD3-VH ВСД-VL ВСД (где ВСД относится ко "второму связывающему домену"). В определенных аспектах пары VH-областей и VL-областей в связывающем домене, связывающемся с CD3, представлены в формате одноцепочечного антитела (scFv). Области VH и VL могут быть расположены в порядке VH-VL или VL-VH. В определенных вариантах реализации scFv может более эффективно связываться с CD3 в ориентации VL-VH, чем в ориентации VH-VL, или наоборот. VH-область может размещаться N-терминально к линкерной последовательности. VL-область может размещаться C-терминально к линкерной последовательности. Расположение доменов в CD3-связывающем домене биспецифической одноцепочечной молекулы может представлять собой VH-VL, причем указанный CD3-связывающий домен расположен C-терминально ко второму связывающему домену. В некоторых случаях биспецифическая молекула может содержать scFv, связывающийся со вторым связывающим доменом, связанным с scFv, связывающимся с CD3. Эти scFv могут быть связаны коротким пептидом. В некоторых вариантах реализации биспецифические одноцепочечные молекулы не содержат шарнирной области или константной области (см., например, US 2013/0295121, US 2013/0129730, US 2011/0293619, US 7635472, WO 2010/037836, WO 2004/106381 и WO 2011/121110; в полном объеме включенные в данный документ посредством ссылки).

В некоторых вариантах реализации связывающий домен представляет собой одноцепочечный фрагмент Fv (scFv), который содержит области V_H и V_L, специфические к представляющей интерес мишени. В определенных вариантах реализации области V_H и V_L являются человеческими или гуманизированными. В некоторых вариациях связывающий домен представляет собой одноцепочечный Fv (scFv), содержащий области V_H и V_L иммуноглобулина, соединенные пептидным линкером. Применение пептидных линкеров для соединения областей V_H и V_L хорошо известно в данной области техники, и в этой конкретной области существует большое количество публикаций. Линкер может иметь аминокислотную последовательность QRHNNSSLNTGTQMAGHSPNS (SEQ ID NO: 148). В некоторых вариантах реализации пептидный линкер представляет собой 15-мер, состоящий из трех повторов аминокислотной последовательности Gly-Gly-Gly-Gly-Ser ((Gly₄Ser)₃) (SEQ ID NO: 193). Также использовали другие линкеры, а для расширения разнообразия и отбора соответствующих линкерных последовательностей использовали метод фагового дисплея, а также селективный инфекционный фаговый метод (Tang et al., J. Biol. Chem. 271, 15682-15686, 1996; Hennecke et al., Protein Eng. 11, 405-410, 1998). В определенных вариантах реализации области V_H и V_L соединены пептидным линкером, имеющим аминокислотную последовательность с формулой (Gly₄Ser)_n, где n = 1-5 (SEQ ID NO: 194). В некоторых вариантах реализации последовательность Gly₄Ser может повторяться 6-10 раз. Другие подходящие линкеры можно получить, оптимизируя простой линкер (например, (Gly₄Ser)_n (SEQ ID NO: 194)) посредством случайного мутагенеза. В некоторых вариантах реализации переменная область тяжелой цепи scFv является амино-концевой относительно переменной области легкой цепи scFv. В других вариантах реализации переменная область легкой цепи scFv является амино-концевой относительно переменной области тяжелой цепи scFv.

В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий полипептид содержит, в порядке от аминоконца к карбокси-концу (или в порядке от карбокси-конца к аминоконцу), (i) второй связывающий домен, (ii) шарнирную область, (iii) константную область иммуноглобулина, (iv) карбокси-концевой линкер (или амино-концевой линкер) и (v) CD3-связывающий домен. При использовании в данном документе в контексте полипептидной конструкции, содержащей первый связывающий домен и второй связывающий домен, "шарнирная область" или "шарнир" относится к полипептидной области между первым связывающим доменом и Fc-областью. "Карбокси-концевой линкер" или "амино-концевой линкер" относится к полипептидной области между Fc-областью и вторым связывающим доменом. В некоторых вариантах реализации карбокси-концевой (или амино-концевой) линкер содержит или состоит из SEQ ID NO: 196. В определенных вариантах реализации шарнирная область представляет собой шарнирную область человеческого иммуноглобулина дикого типа. В определенных других вариантах реализации в аминоконце или карбокси-конец шарнирной области человеческого иммуноглобулина дикого типа могут быть добавлены аминокислотные остатки в качестве части конструкции слитого белка. Например, дополнительные соединительные аминокислотные остатки в аминоконце шарнирной области могут представлять собой "RT", "RSS", "TG" или "T", или в карбокси-конец шарнирной области могут представлять собой "SG", или делецию в шарнирной области можно комбинировать с добавлением, таким как AP с добавлением "SG" в карбокси-конец. В определенных вариантах реализации шарнирная область, карбокси-концевой линкер или амино-концевой линкер представляют собой измененную шарнирную область иммуноглобулина, в которой один или более остатков цистеина в шарнирной области иммуноглобулина дикого типа замещены одним или более другими аминокислотными остатками (например, серином или аланином).

Типовые измененные шарнирные области иммуноглобулина, карбокси-концевые линкеры и аминоконцевые линкеры включают шарнирную область иммуноглобулина человеческого IgG1, в которой один, два или три остатка цистеина, присутствующих в шарнирной области человеческого IgG1 дикого

типа, замещены одним, двумя или тремя отличными аминокислотными остатками (например, серином или аланином). В измененной шарнирной области иммуноглобулина может дополнительно присутствовать замена пролина другой аминокислотой (например, серином или аланином). Например, в вышеописанной измененной шарнирной области человеческого IgG1 может дополнительно присутствовать замена пролина, расположенного карбокси-терминально к трем цистеинам шарнирной области человеческого IgG1 дикого типа другим аминокислотным остатком (например, серином, аланином). В одном варианте реализации пролина в центральной части шарнирной области остаются незамещенными. В определенных вариантах реализации полипептид шарнирной области, карбокси-концевого линкера или аминоконцевого линкера содержит или представляет собой последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 81%, по меньшей мере на 82%, по меньшей мере на 83%, по меньшей мере на 84%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична шарнирной области иммуноглобулина дикого типа, например, шарнирной области человеческого IgG1 дикого типа, шарнирной области человеческого IgG2 дикого типа или шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа.

В дополнительных вариантах реализации шарнирная область, карбокси-концевой линкер или аминоконцевой линкер, присутствующие в CD3-связывающем полипептиде, могут представлять собой шарнирную область, в основе которой не лежит или которая не получена из шарнирной области иммуноглобулин (т.е. не является шарнирной областью иммуноглобулина дикого типа или измененной шарнирной областью). Примеры таких шарнирных областей и карбокси-концевых линкеров включают пептиды, состоящие из от приблизительно пяти до приблизительно 150 аминокислот, полученные из междоменной области трансмембранного белка или стволовой области лектина типа II C, например пептиды, состоящие из от приблизительно восьми до 25 аминокислот, и пептиды, состоящие из от приблизительно семи до 18 аминокислот.

В определенных вариантах реализации междоменные или полученные из стволовой области шарнирные области, карбокси-концевые линкеры и аминоконцевые линкеры имеют от семи до 18 аминокислот и могут образовывать α -суперспиральную структуру. В определенных вариантах реализации междоменные или полученные из стволовой области шарнирные области карбокси-концевые линкеры или аминоконцевые линкеры содержат 0, 1, 2, 3 или 4 цистеина. Типовые междоменные или полученные из стволовой области шарнирные области, карбокси-концевые линкеры и аминоконцевые линкеры представляют собой пептидные фрагменты междоменных или стволовых областей, такие как 150-аминокислотные фрагменты из стволовых областей CD69, CD72, CD94, NKG2A и NKG2D. Шарнирная область, карбокси-концевой линкер или аминоконцевой линкер также могут представлять собой гибкую линкерную последовательность, содержащую повторы (Gly₄Ser). В некоторых вариантах реализации шарнирная область представляет собой 15-мер, состоящий из трех повторов аминокислотной последовательности Gly-Gly-Gly-Gly-Ser ((Gly₄Ser)₃) (SEQ ID NO: 193). В определенных вариантах реализации шарнирная область имеет аминокислотную последовательность с формулой (Gly₄Ser)_n, где n = 1-5 (SEQ ID NO: 194). В некоторых вариантах реализации последовательность Gly₄Ser может повторяться 6-10 раз. Другие подходящие шарнирные области можно получить, оптимизируя простой линкер (например, (Gly₄Ser)_n (SEQ ID NO: 194)) путем случайного мутагенеза.

В определенных вариантах реализации последовательности шарнирной области, карбокси-концевого линкера и аминоконцевого линкера содержат приблизительно от 5 до 150 аминокислот, от 5 до 10 аминокислот, от 10 до 20 аминокислот, от 20 до 30 аминокислот, от 30 до 40 аминокислот, от 40 до 50 аминокислот, от 50 до 60 аминокислот, от 5 до 60 аминокислот, от 5 до 40 аминокислот, от 8 до 20 аминокислот или 10 до 15 аминокислот. Шарнирная область или линкер могут быть преимущественно гибкими, но также могут обеспечивать более жесткие характеристики или могут содержать преимущественно α -спиральную структуру с минимумом β -складчатой структуры. Длины или последовательности шарнирных областей и линкеров могут влиять на аффинность связывания связывающих доменов, с которыми шарнирные области прямо или непрямо (посредством другой области или домена, например, домена гетеродимеризации) соединены, а также на один или более видов активности частей Fc-области, с которыми шарнирные области или линкеры прямо или непрямо соединены.

В определенных вариантах реализации последовательности шарнирной области, карбокси-концевого линкера и аминоконцевого линкера стабильны в плазме и сыворотке крови и устойчивы к протеолитическому расщеплению. Первый лизин в верхней шарнирной области IgG1 может быть мутирован, чтобы свести к минимуму протеолитическое расщепление, например лизин может быть замещен метионином, треонином, аланином или глицином, или удален.

В некоторых вариантах реализации изобретения CD3-связывающий белок способен образовывать гетеродимер со второй полипептидной цепью и содержит шарнирную область, (а) расположенную непосредственно аминоконцевой терминально к константной области иммуноглобулина (например, аминоконцевой терминально к константной области иммуноглобулина).

нально к домену СН2, причем константная область иммуноглобулина содержит домены СН2 и СН3, или аминоконцевально к домену СН3, причем подобласти иммуноглобулина содержат домены СН3 и СН4), (b) вставленную между и соединяющую связывающий домен (например, scFv) и домен гетеродимеризации иммуноглобулина, (c) вставленную между и соединяющую домен гетеродимеризации иммуноглобулина и константную область иммуноглобулина (например, когда константная область иммуноглобулина содержит домены СН2 и СН3 или домены СН3 и СН4), (d) вставленную между и соединяющую константную область иммуноглобулина и связывающий домен, (e) в аминоконце полипептидной цепи или (f) в карбокси-конце полипептидной цепи. Полипептидная цепь, содержащая описанную в данном документе шарнирную область, способна связываться с другой полипептидной цепью с образованием предположенного в данном документе гетеродимерного белка, а образованный гетеродимер будет содержать связывающий домен, который сохраняет целевую специфичность или специфичную аффинность связывания мишени. В определенных вариантах реализации шарнирная область, присутствующая в полипептиде, который образует гетеродимер с другой полипептидной цепью, может представлять собой шарнирную область иммуноглобулина, такую как шарнирная область иммуноглобулина дикого типа или измененная шарнирная область иммуноглобулина. В определенных вариантах реализации шарнирная область одной из полипептидных цепей гетеродимерного белка является идентичной соответствующей шарнирной области другой полипептидной цепи гетеродимера. В определенных других вариантах реализации шарнирная область одной из цепей отличается от шарнирной области другой цепи (по длине или последовательности). Разные шарнирные области в разных цепях позволяют осуществлять разные манипуляции с аффинностью связывания связывающих доменов, с которыми соединены шарнирные области, так что гетеродимер становится способен предпочтительно связываться с мишенью одного связывающего домена по сравнению с мишенью другого связывающего домена. Например, в определенных вариантах реализации гетеродимерный белок содержит CD3-связывающий домен в одной цепи и второй связывающий домен в другой цепи. Наличие двух разных шарнирных областей в двух цепях может позволить гетеродимеру связываться сначала со второй мишенью, а затем с CD3-компонентом первой. Таким образом, гетеродимер может привлекать Т-клетки CD3⁺ к клеткам, экспрессирующим вторую мишень (например, опухолевым или раковым клеткам), а они, в свою очередь, могут повреждать или разрушать клетки, экспрессирующие вторую мишень.

Некоторые примеры последовательностей шарнирной области, карбокси-концевого линкера и аминоконцевого линкера, подходящих для применения в соответствии с настоящим изобретением, приведены ниже в табл. 1 и 2. Дополнительные примеры шарнирных и линкерных областей приведены в SEQ ID NO: 241-244, 601, 78, 763-791, 228, 379-434, 618-749 в US 2013/0129723 (указанные последовательности включены в данный документ посредством ссылки).

Таблица 1. Примеры шарнирных областей и линкеров

Шарнирная область	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO
sss(s)-hlgG1 шарнир	EPKSSDKTHTSPPSS	SEQ ID NO:121
csc(s)-hlgG1 шарнир	EPKSCDKTHTSPPCS	SEQ ID NO:122
ssc(s)-hlgG1 шарнир	EPKSSDKTHTSPPCS	SEQ ID NO:123
scc(s)-hlgG1 шарнир	EPKSSDKTHTCPPCS	SEQ ID NO:124
css(s)-hlgG1 шарнир	EPKSCDKTHTSPPSS	SEQ ID NO:125
scs(s)-hlgG1 шарнир	EPKSSDKTHTCPPSS	SEQ ID NO:126
ccc(s)-hlgG1 шарнир	EPKSCDKTHTSPPCS	SEQ ID NO:127
ccc(p)-hlgG1 шарнир	EPKSCDKTHTSPPCP	SEQ ID NO:128
sss(p)-hlgG1 шарнир	EPKSSDKTHTSPPSP	SEQ ID NO:129
csc(p)-hlgG1 шарнир	EPKSCDKTHTSPPCP	SEQ ID NO:130
ssc(p)-hlgG1 шарнир	EPKSSDKTHTSPPCP	SEQ ID NO:131
scc(p)-hlgG1 шарнир	EPKSSDKTHTCPPCP	SEQ ID NO:132
css(p)-hlgG1 шарнир	EPKSCDKTHTSPPSP	SEQ ID NO:133
scs(p)-hlgG1 шарнир	EPKSSDKTHTCPPSP	SEQ ID NO:134
Scppcp	SCPPCP	SEQ ID NO:135
STD1	NYGGGGSGGGSGGGSGNS	SEQ ID NO:136
STD2	NYGGGGSGGGSGGGSGNY GGGGSGGGSGGGSGNS	SEQ ID NO:137
H1	NS	SEQ ID NO:138
H2	GGGGSGNS	SEQ ID NO:139
H3	NYGGGGSGNS	SEQ ID NO:140
H4	GGGGSGGGSGNS	SEQ ID NO:141
H5	NYGGGGSGGGSGNS	SEQ ID NO:142
H6	GGGGSGGGSGGGSGNS	SEQ ID NO:143
H7	GCPPCPNS	SEQ ID NO:144
(G ₄ S) ₃	GGGGSGGGSGGGGS	SEQ ID NO:145
H105	SGGGSGGGSGGGGS	SEQ ID NO:146
(G ₄ S) ₄	GGGGSGGGSGGGSGGGGS	SEQ ID NO:147
H75 (четырёхкратный мутант NKG2A)	QRHNSSLNTGTQMAGHSPNS	SEQ ID NO:148
H83 (полученный из NKG2A)	SSLNTGTQMAGHSPNS	SEQ ID NO:149
H106 (полученный из NKG2A)	QRHNSSLNTGTQMAGHS	SEQ ID NO:150
H81 (полученный из NKG2D)	EVQIPLTESYSPNS	SEQ ID NO:151
H91 (полученный из NKG2D)	NSLANQEVQIPLTESYSPNS	SEQ ID NO:152
H94	SGGGSGGGSGGGGSPNS	SEQ ID NO:153
H111	SGGGSGGGSGGGGSPGS	SEQ ID NO:196

Таблица 2. Примеры шарнирных областей и линкеров (полученных из шарнирной области H7, стволовой области лектина типа II С или междоменной области трансмембранного белка типа I)

Шарнирная область	Аминокислотная последовательность	Исходная молекула и/или шарнирная область	SEQ ID NO:
H16	LSVKADFLTPSIGNS	CD80	SEQ ID NO:154
H17	LSVKADFLTPSISCPNPCNS	CD80 + H7	SEQ ID NO:155
H18	LSVLANSQPEIGNS	CD86	SEQ ID NO:156
H19	LSVLANSQPEISCPNPCNS	CD86 + H7	SEQ ID NO:157
H20	LKIQERVSKPKISNS	CD2	SEQ ID NO:158
H21	LKIQERVSKPKISCPNPCNS	CD2 + H7	SEQ ID NO:159
H22	LNVSERPFPPHIQNS	CD22	SEQ ID NO:160
H23	LDVSERPFPPHIQSCPPNPCNS	CD22 + H7	SEQ ID NO:161
H24	REQLAEVTLSLKANS	CD80	SEQ ID NO:162
H25	REQLAEVTLSLKACPPNPCNS	CD80 + H7	SEQ ID NO:163
H26	RIHQMNSELSVLANS	CD86	SEQ ID NO:164
H27	RIHQMNSELSVLACPPNPCNS	CD86 + H7	SEQ ID NO:165
H28	DTKGKNVLEKIFSNS	CD2	SEQ ID NO:166
H30	LPPETQESQEVTLNS	CD22	SEQ ID NO:167
H32	RIHLNVSERPFPPNS	CD22	SEQ ID NO:168
H33	RIHLNVSERPFPPPCPPNPCNS	CD22 + H7	SEQ ID NO:169
H36	GCPPCPGGGGSNS	H7	SEQ ID NO:170
H40	GCPPCPANS	H7	SEQ ID NO:171
H41	GCPPCPANS	H7	SEQ ID NO:172
H42	GCPPCPNS	H7	SEQ ID NO:173
H44	GGGASCPPCPGNS	H7	SEQ ID NO:174
H45	GGGASCPPCAGNS	H7	SEQ ID NO:175
H46	GGGASCPPCANS	H7	SEQ ID NO:176
H47	LSVKADFLTPSIGNS	CD80	SEQ ID NO:177
H48	ADFLTPSIGNS	CD80	SEQ ID NO:178
H50	LSVLANSQPEIGNS	CD86	SEQ ID NO:179
H51	LSVLANSQPEIGNS	CD86	SEQ ID NO:180
H52	SQPEIVPISNS	CD86	SEQ ID NO:181
H53	SQPEIVPISCPNPCNS	CD86 + H7	SEQ ID NO:182
H54	SVLANFSQPEISCPNPCNS	CD86 + H7	SEQ ID NO:183
H55	RIHQMNSELSVLANS	CD86	SEQ ID NO:184
H56	QMNSELSVLANS	CD86	SEQ ID NO:185
H57	VSERPFPPNS	CD22	SEQ ID NO:186
H58	KPFFTCGSADTCPNS	CD72	SEQ ID NO:187
H59	KPFFTCGSADTCPNS	CD72	SEQ ID NO:188
H60	QYNCPGQYTFMPNS	CD69	SEQ ID NO:189
H61	EPAFTPGPNIELQKSDCPNS	CD94	SEQ ID NO:190
H62	QRHNNSLNRTRTKARHCPNS	NKG2A	SEQ ID NO:191
H63	NSLNFQEVQIPLTESYCPNS	NKG2D	SEQ ID NO:192

В определенных вариантах реализации CD3-связывающий полипептид или белок согласно изобретению может содержать "домен димеризации иммуноглобулина" или "домен гетеродимеризации иммуноглобулина".

В контексте данного документа "домен димеризации иммуноглобулина" или "домен гетеродимеризации иммуноглобулина" относится к домену иммуноглобулина полипептидной цепи, который предпочтительно взаимодействует или связывается с отличным доменом иммуноглобулина другой полипептидной цепи, причем взаимодействие разных доменов гетеродимеризации иммуноглобулина обеспечивает существенный вклад или эффективно стимулирует гетеродимеризацию первой и второй полипептидных цепей (т.е. образование димера между двумя разными полипептидными цепями, который также называется "гетеродимером" или "гетеродимерным белком"). Взаимодействие между доменами гетеродимеризации иммуноглобулина "обеспечивает существенный вклад или эффективно стимулирует" гетеродимеризацию первой и второй полипептидных цепей, если наблюдается статистически значимое снижение

димеризации между первой и второй полипептидными цепями в отсутствие домена гетеродимеризации иммуноглобулина первой полипептидной цепи и/или домена гетеродимеризации иммуноглобулина второй полипептидной цепи. В определенных вариантах реализации, если первая и вторая полипептидные цепи экспрессируются вместе, по меньшей мере 60%, от по меньшей мере приблизительно 60% до приблизительно 70%, от по меньшей мере приблизительно 70% до приблизительно 80%, от по меньшей мере приблизительно 80% до приблизительно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% первой и второй полипептидных цепей образуют гетеродимеры друг с другом. Типовые домены гетеродимеризации иммуноглобулина включают СН1-домен иммуноглобулина, СL1-домен иммуноглобулина (например, изоформы С_κ и С_λ) или их производные, включая СН1- и СL-домены и измененные (или мутированные) СН1- и СL-домены иммуноглобулина такие, как предложенные в данном документе. Димеризацию/гетеродимеризацию можно использовать, если существует необходимость образования гетеродимеров из двух неидентичных полипептидных цепей, причем одна или обе полипептидные цепи содержат связывающий домен. В определенных вариантах реализации одна из полипептидных цепей определенных гетеродимеров, описанных в данном документе, не содержит связывающий домен. Как указано выше, гетеродимерный белок согласно настоящему изобретению содержит домен гетеродимеризации иммуноглобулина в каждой полипептидной цепи. Домены гетеродимеризации иммуноглобулина полипептидных цепей гетеродимера отличаются друг от друга и, следовательно, могут быть по-разному модифицированы, чтобы облегчить гетеродимеризацию обеих цепей и свести к минимуму гомодимеризацию каждой цепи. Предложенные в данном документе домены гетеродимеризации иммуноглобулина обеспечивают эффективную гетеродимеризацию между разными полипептидами и облегчают очистку получаемого в результате гетеродимерного белка. Как предложено в данном документе, домены гетеродимеризации иммуноглобулина, применимые для стимуляции гетеродимеризации двух разных одноцепочечных полипептидов (например, одного короткого и одного длинного) в соответствии с настоящим изобретением содержат СН1- и СL-домены иммуноглобулина, например, человеческие СН1- и СL-домены. В определенных вариантах реализации домен гетеродимеризации иммуноглобулина представляет собой СН1-домен дикого типа, такой как СН1-домен дикого типа IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE или IgM. В дополнительных вариантах реализации домен гетеродимеризации иммуноглобулина представляет собой СН1-домен дикого типа человеческого IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE или IgM, приведенный в SEQ ID NO: 114, 186-192 и 194 соответственно в US 2013/0129723 (указанные последовательности включены в данный документ посредством ссылки). В определенных вариантах реализации домен гетеродимеризации иммуноглобулина представляет собой СН1-домен дикого типа человеческого IgG1, приведенный в SEQ ID NO: 114 в US 2013/0129723 (указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки).

В дополнительных вариантах реализации домен гетеродимеризации иммуноглобулина представляет собой измененный СН1-домен иммуноглобулина, такой как измененный СН1-домен IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE или IgM. В определенных вариантах реализации домен гетеродимеризации иммуноглобулина представляет собой измененный СН1-домен человеческого IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE или IgM. В дополнительных вариантах реализации остаток цистеина СН1-домена дикого типа (например, человеческого СН1), вовлеченный в образование дисульфидной связи с СL-доменом иммуноглобулина (например, человеческим СL), удален или замещен в измененном СН1-доме иммуноглобулина так, что между измененным СН1-доменом и СL-доменом дикого типа не образуется дисульфидная связь. В определенных вариантах реализации домен гетеродимеризации иммуноглобулина представляет собой СL-домен дикого типа, такой как С_κ-домен дикого типа или С_λ-домен дикого типа. В определенных вариантах реализации домен гетеродимеризации иммуноглобулина представляет собой человеческий С_κ-домен дикого типа или человеческий С_λ-домен дикого типа, например, приведенный в SEQ ID NO: 112 и 113 соответственно в US 2013/0129723 (указанные последовательности включены в данный документ посредством ссылки). В дополнительных вариантах реализации домен гетеродимеризации иммуноглобулина представляет собой измененный СL-домен иммуноглобулина, такой как измененный С_κ- или С_λ-домен, например измененный человеческий С_κ- или человеческий С_λ-домен.

В определенных вариантах реализации остаток цистеина СL-домена дикого типа (например, человеческого СL), вовлеченный в образование дисульфидной связи с СН1-доменом иммуноглобулина дикого типа (например, человеческим СН1), удален или замещен в измененном СL-доме иммуноглобулина. Такие измененные СL-домены могут дополнительно содержать аминокислотную делецию в аминоконцах. Пример С_κ-домена приведен в SEQ ID NO: 141 в US 2013/0129723 (указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки), в которой удалены первый аргинин и последний цистеин человеческого С_κ-домена дикого типа. В определенных вариантах реализации в измененном С_κ-доме удален только последний цистеин человеческого С_κ-домена дикого типа, так как первый аргинин, удаляемый из человеческого С_κ-домена дикого типа, может обеспечиваться линкером, который содержит аргинин в карбокси-конце и связывает amino-конец измененного С_κ-домена с другим доменом (например, подобластью иммуноглобулина, такой как подобласть, содержащая домены СН2 и СН3 им-

муноглобулина) Пример С λ -домена приведен в SEQ ID NO: 140 в US 2013/0129723 (указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки), в которой удален первый аргинин человеческого С λ -домена дикого типа, а цистеин, вовлеченный в образование дисульфидной связи с цистеином в СН1-домене, замещен серином.

В дополнительных вариантах реализации домен гетеродимеризации иммуноглобулина представляет собой измененный С κ -домен, который содержит одну или более аминокислотных замен по сравнению с С κ -доменом дикого типа в позициях, которые могут быть вовлечены в образование межцепочечной сети водородных связей на поверхности раздела С κ -С κ . Например, в определенных вариантах реализации домен гетеродимеризации иммуноглобулина представляет собой измененный человеческий С κ -домен, в котором одна или более аминокислот в позициях N29, N30, Q52, V55, T56, S68 или T70 замещены другой аминокислотой. Нумерация аминокислот основана на их позициях в измененной человеческой С κ -последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 141 в US 2013/0129723 (указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки). В определенных вариантах реализации домен гетеродимеризации иммуноглобулина представляет собой измененный человеческий С κ -домен, содержащий одну, две, три или четыре аминокислотные замены в позициях N29, N30, V55 или T70. Аминокислотой, используемой в качестве заместителя в вышеуказанных позициях, может быть аланин или аминокислотный остаток с объемной боковой цепью, такой как аргинин, триптофан, тирозин, глутамат, глутамин или лизин. Дополнительные аминокислотные остатки, которые можно использовать для замещения аминокислотных остатков человеческой С κ -последовательности дикого типа в вышеуказанных позициях (например, N30), включают аспарат, метионин, серин и фенилаланин. Примеры измененных человеческих С κ -доменов приведены в SEQ ID NO: 142-178 в US 2013/0129723 (указанные последовательности включены в данный документ посредством ссылки). Измененные человеческие С κ -домены являются такими, которые облегчают гетеродимеризацию с СН1-доменом, но сводят к минимуму гомодимеризацию с другим С κ -доменом. Типовые измененные человеческие С κ -домены приведены в SEQ ID NO: 160 (N29WV55A T70A), 161 (N29Y V55A T70A), 202 (T70E N29A N30A V55A), 167 (N30R V55A T70A), 168 (N30K V55A T70A), 170 (N30E V55A T70A), 172 (V55R N29A N30A), 175 (N29W N30Y V55A T70E), 176 (N29Y N30Y V55A T70E), 177 (N30E V55A T70E), 178 (N30Y V55A T70E), 838 (N30D V55A T70E), 839 (N30M V55A T70E), 840 (N30S V55A T70E) и 841 (N30F V55A T70E) в US 2013/0129723 (указанные последовательности включены в данный документ посредством ссылки).

В определенных вариантах реализации в дополнение или в качестве альтернативы мутациям в С κ -доменах, описанным в данном документе, оба домена гетеродимеризации иммуноглобулина (т.е. домены СН1 и С λ иммуноглобулина) полипептидного гетеродимера содержат такие мутации, чтобы получаемые в результате домены гетеродимеризации иммуноглобулина образовывали солевые мостики (т.е. ионные взаимодействия) между аминокислотными остатками в мутированных участках. Например, домены гетеродимеризации иммуноглобулина полипептидного гетеродимера могут представлять собой мутированный СН1-домен в комбинации с мутированным С κ -доменом. В мутированном СН1-домене валин в позиции 68 (V68) человеческого СН1-домена дикого типа замещен аминокислотным остатком, имеющим отрицательный заряд (например, аспаратом или глутаматом), тогда как лейцин в позиции 29 (L29) мутированного человеческого С κ -домена, в котором были удалены первый аргинин и последний цистеин, замещен аминокислотным остатком, имеющим положительный заряд (например, лизином, аргинином или гистидином). Заряд-зарядовое взаимодействие между аминокислотным остатком, имеющим отрицательный заряд полученного в результате мутированного СН1-домена, и аминокислотным остатком, имеющим положительный заряд полученного в результате мутированного С κ -домена, приводит к образованию солевого мостика, который стабилизирует гетеродимерную поверхность раздела между мутированными СН1- и С κ -доменами. В альтернативном варианте V68 СН1 дикого типа может быть замещен аминокислотным остатком, имеющим положительный заряд, тогда как L29 мутированного человеческого С κ -домена, в котором были удалены первый аргинин и последний цистеин, может быть замещен аминокислотным остатком, имеющим отрицательный заряд. Примеры мутированных последовательностей СН1, в которых V68 замещен аминокислотным остатком с отрицательным или положительным зарядом, приведены в SEQ ID NO: 844 и 845 в US 2013/0129723 (указанные последовательности включены в данный документ посредством ссылки). Примеры мутированных последовательностей С κ , в которых L29 замещен аминокислотным остатком с отрицательным или положительным зарядом, приведены в SEQ ID NO: 842 и 843 в US 2013/0129723 (указанные последовательности включены в данный документ посредством ссылки).

Позиции, отличные от V68 человеческого СН1-домена и L29 человеческого С κ -домена, могут быть замещены аминокислотами, имеющими противоположные заряды, для обеспечения ионных взаимодействий между аминокислотами в дополнение или в качестве альтернативы мутациям в V68 СН1-домена и L29 С κ -домена. Такие позиции можно определить любым подходящим способом, включая случайный мутагенез, анализ кристаллической структуры пары СН1-С κ , для определения аминокислотных остатков на поверхности раздела СН1-С κ и дополнительного определения подходящих позиций среди аминокис-

лотных остатков на поверхности раздела СН1-Ск с применением ряда критериев (например, предрасположенность к участию в ионных взаимодействиях, близость к потенциальному остатку-партнеру и т.д.).

В определенных вариантах реализации полипептидные гетеродимеры согласно настоящему изобретению содержат только одну пару доменов гетеродимеризации иммуноглобулина. Например, первая цепь полипептидного гетеродимера может содержать СН1-домен в качестве домена гетеродимеризации иммуноглобулина, тогда как вторая цепь может содержать СL-домен (например, Ск или Сλ) в качестве домена гетеродимеризации иммуноглобулина. В альтернативном варианте первая цепь может содержать СL-домен (например, Ск или Сλ) в качестве домена гетеродимеризации иммуноглобулина, тогда как вторая цепь может содержать СН1-домен в качестве домена гетеродимеризации иммуноглобулина. Как указано в данном документе, домены гетеродимеризации иммуноглобулина первой и второй цепей способны связываться с образованием гетеродимерного белка согласно данному изобретению. В определенных других вариантах реализации гетеродимерные белки согласно настоящему изобретению могут содержать две пары доменов гетеродимеризации иммуноглобулина. Например, первая цепь гетеродимера может содержать два СН1-домена, тогда как вторая цепь может содержать два СL-домена, которые связываются с двумя СН1-доменами в первой цепи. В альтернативном варианте первая цепь может содержать два СL-домена, тогда как вторая цепь может содержать два СН1-домена, которые связываются с двумя СL-доменами в первой цепи. В определенных вариантах реализации первая полипептидная цепь содержит СН1-домен и СL-домен, тогда как вторая полипептидная цепь содержит СL-домен и СН1-домен, которые связываются с СН1-доменом и СL-доменом соответственно первой полипептидной цепи. В вариантах реализации, в которых гетеродимерный белок содержит только одну пару гетеродимеризации (т.е. один домен гетеродимеризации иммуноглобулина в каждой цепи), домен гетеродимеризации иммуноглобулина каждой цепи может быть расположен аминокислотной терминально к константной области иммуноглобулина этой цепи. В альтернативном варианте домен гетеродимеризации иммуноглобулина в каждой цепи может быть расположен карбокси-терминально к константной области иммуноглобулина этой цепи.

В вариантах реализации, в которых гетеродимерный белок содержит две пары гетеродимеризации (т.е. два домена гетеродимеризации иммуноглобулина в каждой цепи), оба домена гетеродимеризации иммуноглобулина в каждой цепи могут быть расположены аминокислотной терминально к константной области иммуноглобулина этой цепи. В альтернативном варианте оба домена гетеродимеризации иммуноглобулина в каждой цепи могут быть расположены карбокси-терминально к константной области иммуноглобулина этой цепи. В дополнительных вариантах реализации один домен гетеродимеризации иммуноглобулина в каждой цепи может быть расположен аминокислотной терминально к константной области иммуноглобулина этой цепи, тогда как другой домен гетеродимеризации иммуноглобулина каждой цепи может быть расположен карбокси-терминально к константной области иммуноглобулина этой цепи. Другими словами, в этих вариантах реализации константная область иммуноглобулина расположена между двумя доменами гетеродимеризации иммуноглобулина каждой цепи. Как указано в данном документе, в определенных вариантах реализации CD3-связывающие полипептиды согласно настоящему изобретению содержат константную область иммуноглобулина (также называемую константной областью) в полипептидной цепи. Включение константной области иммуноглобулина замедляет выведение гомодимерных и гетеродимерных белков, образуемых двумя CD3-связывающими полипептидными цепями, из циркуляции после введения субъекту. Посредством мутаций или других изменений константной области иммуноглобулина дополнительно обеспечивается возможность относительно легкой модуляции эффекторных функций димерного полипептида (например, АЗКЦ, АЗКФ, КЗЦ, фиксации комплемента и связывания с Fc-рецепторами), которые можно как повышать, так и понижать в зависимости от заболевания, лечение которого проводят, как известно в данной области техники и описано в данном документе. В определенных вариантах реализации константная область иммуноглобулина одной или обеих полипептидных цепей полипептидных гомодимеров и гетеродимеров согласно настоящему изобретению способна опосредовать одну или более из этих эффекторных функций. В других вариантах реализации одна или более из этих эффекторных функций снижены или отсутствуют в константной области иммуноглобулина одной или обеих полипептидных цепей полипептидных гомодимеров и гетеродимеров согласно настоящему изобретению по сравнению с соответствующей константной областью иммуноглобулина дикого типа. Например, в случае димерных CD3-связывающих полипептидов, сконструированных для стимуляции ПТКЦ, например, посредством включения второго связывающего домена, константная область иммуноглобулина может иметь сниженную эффекторную функцию или не иметь ее по сравнению с соответствующей константной областью иммуноглобулина дикого типа.

Константная область иммуноглобулина, присутствующая в CD3-связывающих полипептидах согласно настоящему изобретению, может содержать или получена из части или всего из: СН2-домена, СН3-домена, СН4-домена или любой их комбинации. Например, константная область иммуноглобулина может содержать СН2-домен, СН3-домен, СН2- и СН3-домены, СН3- и СН4-домены, два СН3-домена, СН4-домен, два СН4-домена и СН2-домен и часть СН3-домена.

СН2-домен, который может образовывать константную область иммуноглобулина CD3-связыва-

вающего полипептида согласно настоящему изобретению, может представлять собой СН2-домен иммуноглобулина дикого типа или измененный СН2-домен иммуноглобулина из определенных классов и подклассов иммуноглобулина (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2 или IgD) и от различных видов (включая человека, мышь, крысу и других млекопитающих).

В определенных вариантах реализации СН2-домен представляет собой СН2-домен человеческого иммуноглобулина дикого типа, такой как СН2-домены дикого типа человеческого IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2 или IgD, приведенные в SEQ ID NO: 115, 199-201 и 195-197 соответственно в US 2013/0129723 (указанные последовательности включены в данный документ посредством ссылки). В определенных вариантах реализации СН2-домен представляет собой СН2-домен дикого типа человеческого IgG1, приведенный в SEQ ID NO: 115 в US 2013/0129723 (указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки).

В определенных вариантах реализации СН2-домен представляет собой измененную СН2-область иммуноглобулина (например, измененный СН2-домен человеческого IgG1), которая содержит аминокислотную замену в аспарагине в позиции 297 (например, аспарагина на аланин). Такая аминокислотная замена снижает или устраняет гликозилирование в этом участке и подавляет эффективное связывание Fc с FcγR и C1q. Последовательность измененного СН2-домена человеческого IgG1 с заменой Asn на Ala в позиции 297 приведена в SEQ ID NO: 324 в US 2013/0129723 (указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки). В определенных вариантах реализации СН2-домен представляет собой измененную СН2-область иммуноглобулина (например, измененный СН2-домен человеческого IgG1), которая содержит по меньшей мере одну замену или делецию в позициях от 234 до 238. Например, СН2-область иммуноглобулина может содержать замену в позиции 234, 235, 236, 237 или 238, позициях 234 и 235, позициях 234 и 236, позициях 234 и 237, позициях 234 и 238, позициях 234-236, позициях 234, 235 и 237, позициях 234, 236 и 238, позициях 234, 235, 237 и 238, позициях 236-238, или любой другой комбинации из двух, трех, четырех или пяти аминокислот в позициях 234-238. В дополнительном или альтернативном варианте измененная СН2-область может содержать одну или более (например, две, три, четыре или пять) аминокислотных делеций в позициях 234-238, например, в одной из позиции 236 или позиции 237, тогда как другая позиция замещена. Вышеуказанная(ые) мутация(ии) снижает(ют) или устраняет(ют) активность антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности (АЗКЦ) или способность связывать Fc-рецептор полипептидного гетеродимера, который содержит измененный СН2-домен. В определенных вариантах реализации аминокислотные остатки в одной или более из позиций 234-238 были замещены одним или более остатками аланина. В дополнительных вариантах реализации только один из аминокислотных остатков в позициях 234-238 был удален, тогда как одна или более из оставшихся аминокислот в позициях 234-238 может быть замещена другой аминокислотой (например, аланином или серином).

В определенных других вариантах реализации СН2-домен представляет собой измененную СН2-область иммуноглобулина (например, измененный СН2-домен человеческого IgG1), которая содержит одну или более аминокислотных замен в позициях 253, 310, 318, 320, 322 и 331. Например, СН2-область иммуноглобулина может содержать замену в позиции 253, 310, 318, 320, 322 или 331, позициях 318 и 320, позициях 318 и 322, позициях 318, 320 и 322, или любой другой комбинации из двух, трех, четырех, пяти или шести аминокислот в позициях 253, 310, 318, 320, 322 и 331. Вышеуказанная(ые) мутация(ии) снижает(ют) или устраняет(ют) комплементзависимую цитотоксичность (КЗЦ) полипептидного гетеродимера, который содержит измененный СН2-домен.

В определенных других вариантах реализации кроме аминокислотной замены в позиции 297 измененная СН2-область (например, измененный СН2-домен человеческого IgG1) может дополнительно содержать одну или более (например, две, три, четыре или пять) дополнительных замен в позициях 234-238. Например, СН2-область иммуноглобулина может содержать замену в позициях 234 и 297, позициях 234, 235, и 297, позициях 234, 236 и 297, позициях 234-236 и 297, позициях 234, 235, 237 и 297, позициях 234, 236, 238 и 297, позициях 234, 235, 237, 238 и 297, позициях 236-238 и 297, или любой другой комбинации из двух, трех, четырех или пяти аминокислот в позициях 234-238 в дополнение к позиции 297. В дополнительном или альтернативном варианте измененная СН2-область может содержать одну или более (например, две, три, четыре или пять) аминокислотных делеций в позициях 234-238, например, в позиции 236 или позиции 237. Дополнительная(ые) мутация(ии) снижает(ют) или устраняет(ют) активность антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности (АЗКЦ) или способность связывать Fc-рецептор полипептидного гетеродимера, который содержит измененный СН2-домен. В определенных вариантах реализации аминокислотные остатки в одной или более из позиций 234-238 были замещены одним или более остатками аланина. В дополнительных вариантах реализации только один из аминокислотных остатков в позициях 234-238 был удален, тогда как одна или более из оставшихся аминокислот в позициях 234-238 может быть замещена другой аминокислотой (например, аланином или серином).

В определенных вариантах реализации в дополнение к одной или более (например, 2, 3, 4 или 5) аминокислотным заменам в позициях 234-238 мутированная СН2-область (например, измененный СН2-домен человеческого IgG1) в слитом белке согласно настоящему изобретению может содержать одну или более (например, 2, 3, 4, 5 или 6) дополнительных аминокислотных замен (например, замен на аланин) в

одной или более позициях, вовлеченных в фиксацию комплемента (например, в позициях I253, H310, E318, K320, K322 или P331). Примеры мутированных СН2-областей иммуноглобулина включают СН2-области человеческого IgG1, IgG2, IgG4 и мышиноного IgG2a с заменами на аланин в позициях 234, 235, 237 (в случае наличия), 318, 320 и 322.

Примером мутированной СН2-области иммуноглобулина является СН2-область мышиноногоIGHG2с с заменами на аланин в L234, L235, G237, E318, K320 и K322. В дополнительных других вариантах реализации кроме аминокислотной замены в позиции 297 и дополнительной(ых) делеции(ий) или замены(ен) в позициях 234-238 измененная СН2-область (например, измененный СН2-домен человеческого IgG1) может дополнительно содержать одну или более (например, две, три, четыре, пять или шесть) дополнительных замен в позициях 253, 310, 318, 320, 322 и 331. Например, СН2-область иммуноглобулина может содержать (1) замену в позиции 297, (2) одну или более замен или делеций или их комбинацию в позициях 234-238 и одну или более (например, 2, 3, 4, 5 или 6) аминокислотных замен в позициях I253, H310, E318, K320, K322 и P331, например одну, две, три замены в позициях E318, K320 и K322. Аминокислоты в вышеуказанных позициях могут быть замещены аланином или серином. В определенных вариантах реализации СН2-область иммуноглобулина содержит: (i) аминокислотную замену в аспарагинах позиции 297 и одну аминокислотную замену в позициях 234, 235, 236 или 237; (ii) аминокислотную замену в аспарагине позиции 297 и аминокислотные замены в двух из позиций 234-237; (iii) аминокислотную замену в аспарагине позиции 297 и аминокислотные замены в трех из позиций 234-237; (iv) аминокислотную замену в аспарагине позиции 297, аминокислотные замены в позициях 234, 235 и 237, и аминокислотную делецию в позиции 236; (v) аминокислотные замены в трех из позиций 234-237 и аминокислотные замены в позициях 318, 320 и 322; или (vi) аминокислотные замены в трех из позиций 234-237, аминокислотную делецию в позиции 236, и аминокислотные замены в позициях 318, 320 и 322.

Примеры измененных СН2-областей иммуноглобулина с аминокислотными заменами в аспарагине позиции 297 включают: СН2-область человеческого IgG1 с заменами на аланин в L234, L235, G237 и N297 и делецией в G236 (SEQ ID NO: 325 в US 2013/0129723, указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки), СН2-область человеческого IgG2 с заменами на аланин в V234, G236, и N297 (SEQ ID NO: 326 в US 2013/0129723, указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки), СН2-область человеческого IgG4 с заменами на аланин в F234, L235, G237 и N297 и делецией G236 (SEQ ID NO: 322 в US 2013/0129723, указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки), СН2-область человеческого IgG4 с заменами на аланин в F234 и N297 (SEQ ID NO: 343 в US 2013/0129723, указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки), СН2-область человеческого IgG4 с заменами на аланин в L235 и N297 (SEQ ID NO: 344 в US 2013/0129723, указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки), СН2-область человеческого IgG4 с заменами на аланин в G236 и N297 (SEQ ID NO: 345 в US 2013/0129723, указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки), и СН2-область человеческого IgG4 с заменами на аланин в G237 и N297 (SEQ ID NO: 346 в US 2013/0129723, указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки).

В определенных вариантах реализации в дополнение к аминокислотным заменам, описанным выше, измененная СН2-область (например, измененный СН2-домен человеческого IgG1) может содержать одну или более дополнительных аминокислотных замен в одной или более позициях, отличных от вышеуказанных позиций. Такие аминокислотные замены могут быть консервативными или неконсервативными аминокислотными заменами. Например, в определенных вариантах реализации P233 может быть изменен на E233 в измененной СН2-области IgG2 (см., например, SEQ ID NO: 326 в US 2013/0129723, указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки). В дополнительно или альтернативном варианте, в определенных вариантах реализации измененная СН2-область может содержать одну или более аминокислотных вставок, делеций или и то, и другое. Вставка(и), делеция(и) или замена(ы) может(гут) находиться в любом месте СН2-области иммуноглобулина, например, в N- или C-конце СН2-области иммуноглобулина дикого типа, что является результатом связывания СН2-области с другой областью (например, связывающим доменом домена гетеродимеризации иммуноглобулина) посредством шарнирной области.

В определенных вариантах реализации измененная СН2-область в полипептиде согласно настоящему изобретению содержит или представляет собой последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% идентична СН2-области иммуноглобулина дикого типа, такой как СН2-область дикого типа человеческого IgG1, IgG2 или IgG4 или мышиноного IgG2a (например, IGHG2с).

Измененная СН2-область иммуноглобулина CD3-связывающего полипептида согласно настоящему изобретению может быть получена из СН2-области различных изоформ иммуноглобулина, таких как IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2 и IgD, от различных видов (включая человека, мышь, крысу и других млекопитающих). В определенных вариантах реализации измененная СН2-область иммуноглобулина в слитом белке согласно настоящему изобретению может быть получена из СН2-области человеческого IgG1, IgG2 или IgG4, или мышиноного IgG2a (например, IGHG2с), последовательности которых приведены

в SEQ ID NO: 115, 199, 201 и 320 в US 2013/0129723 (указанные последовательности включены в данный документ посредством ссылки).

В определенных вариантах реализации измененный СН2-домен представляет собой СН2-домен человеческого IgG1 с заменами на аланин в позициях 235, 318, 320 и 322 (т.е. СН2-домен человеческого IgG1 с заменами L235A, E318A, K320A и K322A) (SEQ ID NO: 595 в US 2013/0129723, указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки) и, необязательно, мутацией N297 (например, на аланин). В определенных других вариантах реализации измененный СН2-домен представляет собой СН2-домен человеческого IgG1 с заменами на аланин в позициях 234, 235, 237, 318, 320 и 322 (т.е. СН2-домен человеческого IgG1 с заменами L234A, L235A, G237A, E318A, K320A и K322A) (SEQ ID NO: 596 в US 2013/0129723, указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки) и, необязательно, мутацией N297 (например, на аланин).

В определенных других вариантах реализации измененный СН2-домен представляет собой измененный СН2-домен человеческого IgG1 с мутациями, которые, как известно в данной области техники, усиливают иммунологическую активность, такую как АЗКЦ, АЗКФ, КЗЦ, фиксация комплемента, связывание Fc-рецептора или любая их комбинация.

СН3-домен, который может образовывать константную область иммуноглобулина CD3-связывающего полипептида согласно настоящему изобретению, может представлять собой СН3-домен иммуноглобулина дикого типа или измененный СН3-домен иммуноглобулина из определенных классов или подклассов иммуноглобулина (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE, IgM) различных видов (включая человека, мышь, крысу и других млекопитающих). В определенных вариантах реализации СН3-домен представляет собой СН3-домен человеческого иммуноглобулина дикого типа, такой как СН3-домены дикого типа человеческого IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE или IgM, приведенные в SEQ ID NO: 116, 208-210, 204-207 и 212 соответственно в US 2013/0129723 (указанные последовательности включены в данный документ посредством ссылки). В определенных вариантах реализации СН3-домен представляет собой СН3-домен дикого типа человеческого IgG1, приведенный в SEQ ID NO: 116 в US 2013/0129723 (указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки). В определенных вариантах реализации СН3-домен представляет собой измененный СН3-домен человеческого иммуноглобулина, такой как измененный СН3-домен на основании или полученный из СН3-домена дикого типа человеческих IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE или IgM антител. Например, измененный СН3-домен может представлять собой СН3-домен человеческого IgG1 с одной или двумя мутациями в позициях Н433 и Н434 (позиции пронумерованы в соответствии с нумерацией EU). Мутации в таких позициях могут быть вовлечены в фиксацию комплемента. В определенных других вариантах реализации измененный СН3-домен может представлять собой СН3-домен человеческого IgG1, но с одной или двумя аминокислотными заменами в позиции F405 или Y407. Аминокислоты в этих позициях вовлечены во взаимодействие с другим СН3-доменом. В определенных вариантах реализации измененный СН3-домен может представлять собой измененный СН3-домен человеческого IgG1 с удаленным последним лизином. Последовательность измененного СН3-домена приведена в SEQ ID NO: 761 в US 2013/0129723 (указанная последовательность включена в данный документ посредством ссылки).

В определенных вариантах реализации CD3-связывающие полипептиды, образующие полипептидный гетеродимер, содержат пару СН3, содержащую так называемые мутации "выступ-во-впадину" (см. Marvin and Zhu, *Acta Pharmacologica Sinica* 26:649-58, 2005; Ridgway et al., *Protein Engineering* 9:617-21, 1966). Если говорить более конкретно, мутации могут быть внесены в каждый из двух СН3-доменов каждой полипептидной цепи так, чтобы необходимость стерической комплементарности для связывания СН3/СН3 вынуждала эти два СН3-домена связываться друг с другом. Например, СН3-домен в одноцепочечном полипептиде полипептидного гетеродимера может содержать мутацию Т366W (мутация "выступа", которая замещает небольшую аминокислоту более крупной), а СН3-домен в другом одноцепочечном полипептиде полипептидного гетеродимера может содержать мутацию Y407A (мутация "впадины", которая замещает крупную аминокислоту меньшей). Другие примеры мутаций выступ-во-впадину включают (1) мутацию Т366Y в одном СН3-домене и Y407T в другом СН3-домене, и (2) мутацию Т366W в одном СН3-домене и мутации Т366S, L368A и Y407V в другом СН3-домене.

СН4-домен, который может образовывать константную область иммуноглобулина CD3-связывающих полипептидов согласно настоящему изобретению, может представлять собой СН4-домен иммуноглобулина дикого типа или измененный СН4-домен иммуноглобулина из молекул IgE или IgM. В определенных вариантах реализации СН4-домен представляет собой СН4-домен человеческого иммуноглобулина дикого типа, такой как СН4-домены дикого типа молекул человеческого IgE или IgM, приведенные в SEQ ID NO: 213 и 214 соответственно в US 2013/0129723 (указанные последовательности включены в данный документ посредством ссылки). В определенных вариантах реализации СН4-домен представляет собой измененный СН4-домен человеческого иммуноглобулина, такой как измененный СН4-домен на основании или полученный из СН4-домена молекул человеческого IgE или IgM, которые имеют мутации, повышающие или снижающие иммунологическую активность, связанную с Fc-областью IgE или IgM. В определенных вариантах реализации константная область иммуноглобулина CD3-связывающих полипептидов согласно настоящему изобретению содержит комбинацию доменов СН2,

СН3 или СН4 (т.е. более чем один домен константной области выбран из СН2, СН3 и СН4). Например, константная область иммуноглобулина может содержать домены СН2 и СН3 или домены СН3 и СН4. В определенных других вариантах реализации константная область иммуноглобулина может содержать два домена СН3 и не содержать домены СН2 или СН4 (т.е. только два или более СН3).

Несколько доменов константной области, которые образуют константную область иммуноглобулина, могут иметь основу в виде или быть получены из одной и той же молекулы иммуноглобулина или одного и того же класса или подкласса молекул иммуноглобулина. В определенных вариантах реализации константная область иммуноглобулина представляет собой IgG СН₂СН₃ (например, IgG1 СН₂СН₃, IgG2 СН₂СН₃ и IgG4 СН₂СН₃) и может быть человеческой (например, принадлежащей человеческому IgG1, IgG2 и IgG4) СН₂СН₃. Например, в определенных вариантах реализации константная область иммуноглобулина содержит (1) домены СН2 и СН3 дикого типа человеческого IgG1, (2) СН2 человеческого IgG1 с заменой N297A (т.е. СН2(N297A)) и СН3 дикого типа человеческого IgG1 или (3) СН2(N297A) человеческого IgG1 и измененный СН3 человеческого IgG1 с удалением последнего лизина. В альтернативном варианте Несколько доменов константной области могут иметь основу в виде или быть получены из разных молекул иммуноглобулина или разных классов или подклассов молекул иммуноглобулина. Например, в определенных вариантах реализации константная область иммуноглобулина содержит как домен СН3 человеческого IgM, так и домен СН3 человеческого IgG1. Несколько доменов константной области, которые образуют константную область иммуноглобулина, могут быть напрямую связаны вместе или могут быть связаны друг с другом посредством одной или более (например, приблизительно 2-10) аминокислот.

Примеры константных областей иммуноглобулина приведены в SEQ ID NO: 305-309, 321, 323, 341, 342 и 762 в US 2013/0129723 (указанные последовательности включены в данный документ посредством ссылки).

В определенных вариантах реализации константные области иммуноглобулина обоих CD3-связывающих полипептидов полипептидного гомодимера или гетеродимера идентичны друг с другом. В определенных других вариантах реализации константная область иммуноглобулина одной полипептидной цепи гетеродимерного белка отличается от константной области иммуноглобулина другой полипептидной цепи гетеродимера. Например, одна константная область иммуноглобулина гетеродимерного белка может содержать СН3-домен с мутацией "узла", тогда как другая константная область иммуноглобулина гетеродимерного белка может содержать СН3-домен с мутацией "впадины".

Данное изобретение относится к CD3-связывающим белкам и полипептидам, которые могут содержать любую из последовательностей, приведенных в табл. 14. Аминокислотные последовательности для полипептидных конструкций могут содержать или не содержать сигнальные последовательности. CD3-связывающие белки могут содержать любые CD3-связывающие домены, описанные выше. В некоторых аспектах CD3-связывающие белки содержат гуманизированные аминокислотные последовательности V_H или V_L или их обе.

Примеры биспецифических CD3-связывающих полипептидов приведены в табл. 12 и 13. Такие примеры включают анти-PSMA x анти-CD3 связывающие молекулы (SEQ ID NO: 62, 64, 66 и 68), анти-CD37 x анти-CD3 связывающие молекулы (SEQ ID NO: 72, 74, 76, 78, 80 и 82), анти-ROR1 x анти-CD3 связывающие молекулы (SEQ ID NO: 100, 104, 108, 112, 116 и 120) и анти-CD123 x анти-CD3 связывающие молекулы (SEQ ID NO: 197 и 198).

CD3-связывающие молекулы можно получить, используя подложки, как в общем случае описано в US 2013/0129723 и US 2013/0095097, которые в полном объеме включены в данный документ посредством ссылки. CD3-связывающие белки могут содержать две неидентичные полипептидные цепи, при этом каждая полипептидная цепь содержит домен гетеродимеризации иммуноглобулина. Стыкующиеся домены гетеродимеризации иммуноглобулина являются разными. В одном варианте реализации домен гетеродимеризации иммуноглобулина содержит СН1-домен или его производное. В другом варианте реализации домен гетеродимеризации иммуноглобулина содержит СL-домен или его производное. В одном варианте реализации СL-домен представлен изотипами Сκ или Сλ или их производными.

Данное изобретение также включает нуклеиновые кислоты (например, ДНК или РНК), кодирующие CD3-связывающие домены, белки или полипептиды, описанные в данном документе, или одну или более полипептидных цепей гомодимерного или гетеродимерного CD3-связывающего белка, описанного в данном документе. Нуклеиновые кислоты согласно изобретению включают нуклеиновые кислоты, содержащие область, которая по существу идентична полинуклеотиду, приведенному в табл. 14, выше. В определенных вариантах реализации нуклеиновая кислота в соответствии с настоящим изобретением имеет по меньшей мере приблизительно 80%, как правило, по меньшей мере приблизительно 90% и еще чаще по меньшей мере приблизительно 95% или по меньшей мере приблизительно 98% идентичности с кодирующим полипептид полинуклеотидом, приведенным в табл. 14. Нуклеиновые кислоты согласно изобретению также включают комплементарные нуклеиновые кислоты. В некоторых случаях последовательности становятся полностью комплементарными (без несовпадений) при выравнивании. В других случаях в последовательностях может быть до приблизительно 20% несовпадения. В некоторых вариантах реализации изобретения предложены нуклеиновые кислоты, кодирующие, как первую, так и вторую

цепи гетеродимерного CD3-связывающего белка согласно изобретению. Предложенные в данном документе нуклеиновые кислоты можно получать, используя оптимизацию кодонов, вырождение последовательностей, молчащие мутации и другие ДНК-технологии для оптимизации экспрессии в конкретном хозяине, а настоящее изобретение включает такие модификации последовательностей.

Данное изобретение относится к выделенной молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей CD3-связывающие домены, белки и полипептиды (или их части), описанные в данном документе, причем указанная молекула нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57 или 59. Полинуклеотидные молекулы, содержащие необходимую полинуклеотидную последовательность, размножают, помещая молекулу в вектор. Используют вирусные и невирусные векторы, включая плазмиды. Выбор плазмиды зависит от типа клетки, в которой необходимо размножение, и цели размножения. Некоторые векторы применяют для амплификации и получения больших количеств необходимой последовательности ДНК. Другие векторы подходят для экспрессии в клетках в культуре. Другие векторы подходят для переноса и экспрессии в клетках в организме животного или человека. Выбор соответствующего вектора входит в компетенцию специалиста в данной области техники. Многие такие векторы доступны на коммерческой основе. Частичный или полноразмерный полинуклеотид вставляют в вектор, как правило, посредством присоединения ДНК-лигазы к расщепляемому рестрикционными ферментами участку в векторе. В альтернативном варианте необходимую нуклеотидную последовательность можно вставить путем гомологичной рекомбинации *in vivo*. Как правило, это осуществляют путем присоединения областей гомологии к вектору по бокам необходимой нуклеотидной последовательности. Области гомологии добавляют, например, посредством лигирования олигонуклеотидов или посредством полимеразной цепной реакции с использованием праймеров, содержащих как область гомологии, так и часть необходимой нуклеотидной последовательности.

Для экспрессии можно использовать экспрессионную кассету или систему. Чтобы экспрессировать нуклеиновую кислоту, кодирующую описанный в данном документе полипептид, кодирующую полипептид молекулу нуклеиновой кислоты, функционально связанную с регуляторными последовательностями, которые регулируют транскрипционную экспрессию в экспрессионном векторе, вносят в клетку-хозяина. Кроме транскрипционных регуляторных последовательностей, таких как промоторы и энхансеры, экспрессионные векторы могут содержать трансляционные регуляторные последовательности и маркерный ген, который удобен для отбора клеток, несущих экспрессионный вектор. Генный продукт, кодируемый полинуклеотидом согласно изобретению, экспрессируют в любой удобной экспрессионной системе, включая, например, системы бактерий, дрожжей, насекомых, амфибий и млекопитающих. В экспрессионном векторе кодирующий полипептид полинуклеотид соответствующим образом связан с регуляторной последовательностью, чтобы получить необходимые экспрессионные свойства. Эти последовательности включают промоторы, энхансеры, терминаторы, операторы, репрессоры и индукторы. Промоторы могут быть регулируемыми (например, промотор из индуцируемого стероидами вектора *pIND (Invitrogen)*) или конститутивными (например, промотор из ЦМВ, SV40, фактора элонгации или последовательностей ДКП). Они связаны с необходимой нуклеотидной последовательностью с помощью описанных выше методов связывания с векторами. Можно использовать любые известные в данной области техники методы. Соответственно, в общем случае экспрессионный вектор будет обеспечивать область инициации транскрипции и трансляции, которая может быть индуцибельной или конститутивной, причем кодирующая область функционально связана под транскрипционным управлением со стороны области инициации транскрипции и области терминации транскрипции и трансляции.

Экспрессионную кассету ("экспрессионную единицу") можно вносить во множество векторов, например, плазмиду, ВАС, YAC, бактериофаг, такой как лямбда, P1, M13, и т.д., растительные или животные вирусные векторы (например, векторы на основе ретровирусов, аденовирусные векторы) и тому подобные, причем векторы обычно характеризуются способностью обеспечивать отбор клеток, содержащих экспрессионные векторы. Векторы могут обеспечивать внехромосомную поддержку, в частности в случае плазмид или вирусов, или интеграцию в хромосому хозяина. В случае необходимости внехромосомной поддержки обеспечивают исходную последовательность для репликации плазмиды, которая может характеризоваться низким или высоким количеством копий. Для проведения отбора доступен широкий спектр маркеров, в частности тех, которые защищают от токсинов, более конкретно, от антибиотиков. Конкретный выбранный маркер выбирают в соответствии с природой организма-хозяина, при этом в некоторых случаях может использоваться комплементация с ауксотрофными хозяевами. При внесении ДНК-конструкции можно использовать любой удобный способ, включая, например, конъюгацию, бактериальную трансформацию, осаждение ДНК кальцием, электропорацию, слияние, трансфекцию, инфицирование вирусными векторами, биолистику и тому подобное. Данное изобретение относится к экспрессионному вектору, содержащему сегмент нуклеиновой кислоты, причем указанный сегмент нуклеиновой кислоты может содержать нуклеотидную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57 или 59.

Соответственно, белки для применения в рамках настоящего изобретения можно получать в генетически сконструированных клетках-хозяевах в соответствии с традиционными методиками. Подходя-

щими клетками-хозяевами, являются те типы клеток, которые можно трансформировать или трансфицировать экзогенной ДНК и выращивать в культуре, и включают бактерии, клетки грибов и культивируемые клетки высших эукариотов (включая культивируемые клетки многоклеточных организмов), в частности культивируемые клетки млекопитающих. Методики для проведения манипуляций с клонированными молекулами ДНК и внесения экзогенной ДНК в различные клетки-хозяев описаны в Sambrook and Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001) и Ausubel et al., *Short Protocols in Molecular Biology* (4th ed., John Wiley & Sons, 1999). Например, для рекомбинантной экспрессии гомодимерного CD3-связывающего белка, содержащего два идентичных CD3-связывающих полипептида, описанного в данном документе, экспрессионный вектор в общем случае будет содержать сегмент нуклеиновой кислоты, кодирующий CD3-связывающий полипептид, функционально связанный с промотором. Для рекомбинантной экспрессии гетеродимерного CD3-связывающего белка, содержащего разные первую и вторую полипептидные цепи, первая и вторая полипептидные цепи могут совместно экспрессироваться с двух отдельных векторов в клетке-хозяине для экспрессии целого гетеродимерного белка. В альтернативном варианте для экспрессии гетеродимерных CD3-связывающих белков первая и вторая полипептидные цепи совместно экспрессируются с разных экспрессионных единиц в одном векторе в клетке-хозяине для экспрессии целого гетеродимерного белка. Экспрессионный(ые) вектор(ы) вносят в клетку-хозяина традиционными методами, а затем культивируют трансфицированные клетки традиционными методами, чтобы получить кодируемый(ые) полипептид(ы) для получения соответствующего CD3-связывающего белка.

Для направления рекомбинантного белка в секреторный путь клетки-хозяина в экспрессионном векторе обеспечивают секреторную сигнальную последовательность (также известную как лидерная последовательность). Секреторная сигнальная последовательность может быть последовательностью нативной формы рекомбинантного белка или может быть получена из другого секретируемого белка или синтезирована *de novo*. Секреторная сигнальная последовательность функционально связана с кодирующей полипептид последовательностью ДНК, т.е. две последовательности связаны в правильной рамке считывания и расположены так, чтобы направлять только что синтезированный белок в секреторный путь клетки-хозяина. Секреторные сигнальные последовательности обычно расположены 5' относительно последовательности ДНК, кодирующей представляющий интерес полипептид, хотя некоторые сигнальные последовательности могут располагаться в другом месте представляющей интерес последовательности ДНК (см., например, Welch et al., патент США № 5037743; Holland et al., патент США № 5143830). В определенных вариациях секреторная сигнальная последовательность для применения в соответствии с настоящим изобретением имеет аминокислотную последовательность MEA-PAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 195).

Культивируемые клетки млекопитающих являются подходящими хозяевами для получения рекомбинантных белков для применения в рамках настоящего изобретения.

Способы внесения экзогенной ДНК в клетки-хозяев млекопитающих включают опосредованную фосфатом кальция трансфекцию (Wigler et al., *Cell* 14:725, 1978; Corsaro and Pearson, *Somatic Cell Genetics* 7:603, 1981; Graham and Van der Eb, *Virology* 52:456, 1973), электропорацию (Neumann et al., *EMBO J.* 1:841-845, 1982), опосредованную ДЭАЭ-декстраном трансфекцию (Ausubel et al., выше) и опосредованную липосомами трансфекцию (Hawley-Nelson et al., *Focus* 15:73, 1993; Ciccarone et al., *Focus* 15:80, 1993). Получение рекомбинантных полипептидов в культивируемых клетках млекопитающих описано, например, в Levinson et al., патент США № 4713339; Hagen et al., патент США № 4784950; Palmiter et al., патент США № 4579821; и Ringold, патент США № 4656134. Примеры подходящих клеток-хозяев млекопитающих включают клетки почки Африканской зеленой мартышки (Vero; ATCC CRL 1587), клетки первичной почки человека (293-HEK; ATCC CRL 1573), клетки почки новорожденного хомяка (ВНК-21, ВНК-570; ATCC CRL 8544, ATCC CRL 10314), клетки почки собаки (MDCK; ATCC CCL 34), клетки яичника китайского хомяка (CHO-K1; ATCC CCL61; CHO DG44; CHO DXB11 (Hyclone, Logan, UT); также смотрите, например, Chasin et al., *Som. Cell. Molec. Genet.* 12:555, 1986), питуциты крысы (GH1; ATCC CCL82), клетки HeLa S3 (ATCC CCL2.2), клетки гепатомы крыс (H-4-II-E; ATCC CRL 1548) SV40-трансформированные клетки почки обезьяны (COS-1; ATCC CRL 1650) и клетки эмбриона мыши (NIH-3T3; ATCC CRL 1658). Дополнительные подходящие линии клеток известны в данной области техники и доступны из общедоступных депозитариев, таких как Американская коллекция типовых культур, Манассас, Виргиния. Можно использовать сильные транскрипционные промоторы, такие как промоторы из SV-40 или цитомегаловируса. Смотрите, например, патент США № 4956288. Другие подходящие промоторы включают промоторы из генов металлотиионеина (патенты США № 4579821 и 4601978) и аденовирусный основной поздний промотор.

Отбор по чувствительности к лекарственному препарату в общем случае используют для отбора культивируемых клеток млекопитающих, в которые была внесена чужеродная ДНК. Такие клетки обычно называются "трансфектантами". Клетки, которые культивировали в присутствии селективного агента и которые способны передавать представляющий интерес ген своему потомству, называются "стабильными трансфектантами". Примеры селективных маркеров включают ген, кодирующий устойчивость к антибиотикам неомицину, который позволяет проводить отбор в присутствии неомицинового лекарственно-

го препарата, такого как G-418 или ему подобного; ген *gpt* для ксантин-гуанин фосфорибозилтрансферазы, которая обеспечивает рост клеток-хозяев в присутствии микофеноловой кислоты/ксантина; и маркеры, которые обеспечивают устойчивость к зеоцину, блеомицину, бластоцидину и гигромицину (см., например, Gatignol et al., *Mol. Gen. Genet.* 207:342, 1987; Drocourt et al., *Nucl. Acids Res.* 18:4009, 1990). Селекционные системы также можно использовать для повышения уровня экспрессии представляющего интерес гена, что называется "амплификацией". Амплификацию осуществляют, культивируя трансфектанты в присутствии низкого уровня селективного агента, а затем повышая количество селективного агента, чтобы отобрать клетки, которые вырабатывают высокие уровни продуктов внесенных генов. Примером амплифицируемого селективного маркера является дигидрофолатредуктаза, которая обеспечивает устойчивость к метотрексату. Также можно использовать другие гены устойчивости к лекарственным препаратам (например, устойчивости к гигромицину, множественной лекарственной резистентности, пурамицин ацетилтрансферазы).

В качестве хозяев также можно использовать клетки других высших эукариотов, включая клетки насекомых, клетки растений и клетки птиц. Применение *Agrobacterium rhizogenes* в качестве вектора для экспрессии генов в клетках растений было описано в Sinkar et al., *J. Biosci. (Bangalore)* 11:47-58, 1987. Трансформация клеток насекомых и получение в них чужеродных полипептидов описаны в Guarino et al., US 5162222 и WO 94/06463.

Клетки насекомых можно инфицировать рекомбинантным бакуловирусом, обычно получаемым из вируса ядерного полиэдроза *Autographa californica* (AcNPV). Смотрите King and Possee, *The Baculovirus Expression System: A Laboratory Guide* (Chapman & Hall, London); O'Reilly et al., *Baculovirus Expression Vectors: A Laboratory Manual* (Oxford University Press., New York 1994); и *Baculovirus Expression Protocols. Methods in Molecular Biology* (Richardson ed., Humana Press, Totowa, NJ, 1995). Рекомбинантный бакуловирус также можно получать, используя систему на основе транспозонов, описанную в Luckow et al. (*J. Virol.* 67:4566-4579, 1993). Эта система, в которой используются векторы переноса, доступна на коммерческой основе в форме набора (набор BAC-TO-BAC; Life Technologies, Gaithersburg, MD). Вектор переноса (например, PFASTBAC1; Life Technologies) содержит транспозон Tn7 для перемещения ДНК, кодирующей представляющий интерес белок, в геном бакуловируса, находящийся в *E. coli* в виде большой плазмиды, называемой "бакмидой". См. Hill-Perkins and Possee, *J. Gen. Virol.* 71:971-976, 1990; Bonning et al., *J. Gen. Virol.* 75:1551-1556, 1994; и Chazenbalk and Rapoport, *J. Biol. Chem.* 270:1543-1549, 1995. Кроме того, векторы переноса могут включать находящееся в рамке слияние с ДНК, кодирующей продление полипептида или аффинную метку, как описано выше. Используя известные в данной области техники методики, вектор переноса, содержащий кодирующую белок последовательность ДНК, трансформируют в клетки-хозяев *E. coli* и проводят скрининг клеток в отношении бакмид, которые содержат прерывистый ген *lacZ*, свидетельствующий о наличии рекомбинантного бакуловируса. ДНК бакмиды, содержащую геном рекомбинантного бакуловируса, выделяют, используя общепринятые методики, и используют, чтобы трансфицировать клетки *Spodoptera frugiperda*, такие как клетки Sf9. После этого вырабатывается рекомбинантный вирус, экспрессирующий представляющий интерес белок. Запасы рекомбинантных вирусов CD3 дают способами, обычно используемыми в данной области техники.

В случае получения белка рекомбинантный вирус используют, чтобы инфицировать клетки-хозяев, как правило, линию клеток, полученную от травяной совки, *Spodoptera frugiperda* (например, клетки Sf9 или Sf21) или *Trichoplusia ni* (например, клетки HIGH FIVE; Invitrogen, Carlsbad, CA). В общем случае смотрите Glick and Pasternak, *Molecular Biotechnology, Principles & Applications of Recombinant DNA* (ASM Press, Washington, D.C., 1994). См. также патент США № 5300435. Для выращивания и поддержания клеток используют бессывороточные среды. Подходящие составы сред известны в данной области техники и могут быть приобретены у коммерческих поставщиков. Клетки выращивают, начиная с плотности инокуляции, составляющей приблизительно $2-5 \times 10^5$ клеток, до плотности, составляющей $1-2 \times 10^6$ клеток, и в этот момент времени добавляют запас рекомбинантного вируса при множественности заражения (MOI), составляющей от 0,1 до 10, более обычно приблизительно 3. Используемые процедуры в общем случае описаны в доступных лабораторных руководствах (см., например, King and Possee, выше; O'Reilly et al., выше; Richardson, выше).

В рамках настоящего изобретения также можно использовать клетки грибов, включая клетки дрожжей. В этом отношении клетки дрожжей включают, например, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris* и *Pichia methanolica*. Способы трансформации клеток *S. cerevisiae* экзогенной ДНК и получения из них рекомбинантных полипептидов описаны, например, в Kawasaki, патент США № 4599311; Kawasaki et al., патент США № 4931373; Brake, патент США № 4870008; Welch et al., патент США № 5037743; и Murray et al., патент США № 4845075. Трансформированные клетки отбирают по фенотипу, определяемому селективным маркером, обычно устойчивости к лекарственным препаратам или способности к росту в отсутствие конкретного питательного вещества (например, лейцина). Примером векторной системы для применения в *Saccharomyces cerevisiae* является векторная система POT1, описанная в Kawasaki et al. (патент США № 4931373), которая позволяет проводить отбор трансформированных клеток путем выращивания в среде, содержащей глюкозу. Подходящие промоторы и терминаторы для применения в дрожжах включают полученные из генов гликолитических ферментов (см., например, Kawasaki, патент

США № 4599311; Kingsman et al., патент США № 4615974; и Bitter, патент США № 4977092) и генов алкогольдегидрогеназы. Смотрите также патенты США № 4990446; 5063154; 5139936; и 4661454. Трансформационные системы для других дрожжей, включая *Hansenula polymorpha*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Ustilago maydis*, *Pichia pastoris*, *Pichia methanolica*, *Pichia guilliermondii* и *Candida maltosa*, известны в данной области техники.

См., например, Gleeson et al., *J. Gen. Microbiol.* 132:3459-3465, 1986; Cregg, патент США № 4882279; и Raymond et al., *Yeast* 14:11-23, 1998. Клетки *Aspergillus* можно использовать в соответствии со способами согласно McKnight et al., патент США № 4935349. Способы трансформации *Acremonium chrysogenum* описаны в Sumino et al., патент США № 5162228. Способы трансформации *Neurospora* описаны в Lambowitz, патент США № 4486533. Получение рекомбинантных белков в *Pichia methanolica* описано в патентах США № 5716808; 5736383; 5854039; и 5888768.

Прокариотические клетки-хозяева, включая штаммы бактерий *Escherichia coli*, *Bacillus* и других родов, также являются подходящими клетками-хозяевами в рамках настоящего изобретения. Методы трансформации этих хозяев и экспрессии чужеродных последовательностей ДНК, клонированных в них, хорошо известны в данной области техники (см., например, Sambrook and Russell, выше). При экспрессии рекомбинантного белка в бактериях, таких как *E. coli*, белок может удерживаться в цитоплазме, как правило, в виде нерастворимых гранул, или может быть направлен в периплазматическое пространство бактериальной последовательностью секреции. В первом случае клетки лизируют, а гранулы восстанавливают и денатурируют, используя, например, изотиоцианат гуанидина или мочевины. Затем можно провести повторное сворачивание и димеризацию денатурированного белка путем разведения денатуранта, например, с помощью диализа против раствора мочевины и комбинации восстановленного и окисленного глутатиона, с последующим диализом против солевого буферного раствора. В альтернативном варианте белок можно восстановить из цитоплазмы в растворимой форме и выделить без применения денатурантов. Белок восстанавливают из клетки в виде водного экстракта, например, в фосфатно-солевом буфере. Чтобы произвести захват представляющего интерес белка, экстракт применяют непосредственно к хроматографической среде, такой как колонка с иммобилизованным антителом или гепарином-сефарозой. Секретируемые белки можно восстановить из периплазматического пространства в растворимой и функциональной форме путем разрушения клеток (посредством, например, обработки ультразвуком или применения осмотического шока) для высвобождения содержимого периплазматического пространства и восстановления белка, тем самым устраняя необходимость в денатурации и повторном сворачивании. Антитела, включая одноцепочечные антитела, можно получать в бактериальных клетках-хозяевах в соответствии с известными способами. См., например, Bird et al., *Science* 242:423-426, 1988; Huston et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883, 1988; и Pantoliano et al., *Biochem.* 30:10117-10125, 1991.

Трансформированные или трансфицированные клетки-хозяев культивируют в соответствии с традиционными процедурами в культуральной среде, содержащей питательные вещества и другие компоненты, необходимые для роста выбранных клеток-хозяев. В данной области техники известно множество подходящих сред, включая определенные среды и комплексные среды, которые обычно содержат источник углерода, источник азота, незаменимые аминокислоты, витамины и минералы. Среда также может содержать такие компоненты, как факторы роста или сыворотка, в случае необходимости. В общем случае среда для роста обеспечивает отбор клеток, содержащих добавленную экзогенным образом ДНК, например, путем отбора по чувствительности к лекарственному препарату или создания недостатка незаменимого питательного вещества, что дополняется селективным маркером, который несет экспрессионный вектор, или который совместно трансфицирован в клетку-хозяина. CD3-связывающие белки можно очищать традиционными способами белковой очистки, как правило, посредством комбинации хроматографических методов. В общем случае смотрите *Affinity Chromatography: Principles & Methods* (Pharmacia LKB Biotechnology, Uppsala, Sweden, 1988); Scopes, *Protein Purification: Principles and Practice* (Springer-Verlag, New York 1994). Белки, содержащие Fc-область иммуноглобулина можно очищать посредством аффинной хроматографии на иммобилизованном протеине А или протеине G. Дополнительные этапы очистки, такие как гель-фильтрация, можно использовать, чтобы получить необходимый уровень очистки или чтобы обеспечить обессоливание, замену буфера и тому подобное.

Описанные в данном документе CD3-связывающие молекулы можно использовать в способе лечения субъекта (например, человека или отличного от человека примата) или для производства медикамента для лечения субъекта. В общем случае такие способы включают введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, описанного в данном документе CD3-связывающего белка. Описанные в данном документе CD3-связывающие молекулы можно использовать в способе лечения субъекта (например, человека или отличного от человека примата) или для производства медикамента для лечения субъекта. В общем случае такие способы включают введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, описанного в данном документе CD3-связывающего белка. В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий белок имеет по меньшей мере одну эффекторную функцию, выбранную из антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (АЗКЦ) и комплементзависимой цитотоксичности (КЗЦ), так, что CD3-связывающий белок индуцирует АЗКЦ и/или КЗЦ против CD3-экспрессирующих клеток в организ-

ме субъекта. В некоторых аспектах в настоящем изобретении предложены способы лечения субъекта с нарушением, характеризуемым сверхэкспрессией CD3. В одном случае моноспецифический CD3-связывающий полипептид вводят пациенту, страдающему от аутоиммунного заболевания (например, ревматоидного артрита). В определенных вариациях предложенный в данном документе CD3-связывающий белок можно применять для модуляции функции и поведения Т-клеток, обеспечивая, таким образом, терапевтическое лечение опосредованного Т-клетками заболевания, включая аутоиммунные или воспалительные заболевания, в которых Т-клетки играют существенную роль. Так как CD3-связывающие белки согласно настоящему изобретению не активируют Т-клетки и/или не индуцируют высвобождение цитокинов, они имеют преимущество по сравнению с другими молекулами, направленными против комплекса ТКР (например, анти-CD3 антителами) в отношении того, что для них не характерны или характерны сниженные побочные явления, такие как синдром высвобождения цитокинов и острая токсичность. В другом случае CD3-связывающий полипептид вводят субъекту перед проведением трансплантации органа.

В другом аспекте в настоящем изобретении предложен способ лечения нарушения, характеризуемого сверхэкспрессией опухолевого антигена, такого как рак. Примеры опухолевых антигенов, которые могут распознаваться биспецифическими CD3-связывающими белками, включают PSMA, CD19, CD20, CD37, CD38, CD123, Her2, ROR1, RON, гликопротеиновый антиген A33 (gpA33) и CEA. В общем случае такие способы включают введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества CD3-связывающего белка, содержащего второй связывающий домен, который связывает опухолевый антиген, как описано в данном документе. В некоторых вариантах реализации CD3-связывающий белок индуцирует перенаправленную Т-клеточную цитотоксичность (ПТКЦ) против клеток, экспрессирующих опухолевый антиген, у субъекта. Примеры видов рака, которые поддаются лечению в соответствии с настоящим изобретением, включают, например, рак простаты, колоректальный рак, почечноклеточную карциному, рак мочевого пузыря, рак слюнной железы, рак поджелудочной железы, рак яичника, мелкоклеточный рак легкого, меланому, рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы), рак надпочечников, мантийноклеточную лимфому, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, неходжкинскую лимфому, острый миелоцитарный лейкоз (ОМЛ), В-лимфоидный лейкоз, бластное новообразование из плазмацитоидных дендритных клеток (БНПДК) и лейкоз ворсистых клеток.

В изобретении также предложены способы лечения рака или аутоиммунного нарушения, включающие введение нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества композиций или CD3-связывающих полипептидов, описанных в данном документе.

В некоторых вариантах реализации в изобретении предложен способ лечения пациента с раком, включающий введение пациенту CD3-связывающего полипептида, содержащего CD3-связывающий домен, который специфически связывается с человеческим CD3 и содержит вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина и вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина; причем вариабельная область легкой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность, которая (a) по меньшей мере на приблизительно 93% идентична, по меньшей мере на приблизительно 95% идентична, по меньшей мере на приблизительно 97% идентична, по меньшей мере на приблизительно 98% идентична или по меньшей мере на приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности в SEQ ID NO: 88; или (b) по меньшей мере на приблизительно 94% идентична, по меньшей мере на приблизительно 95% идентична, по меньшей мере на приблизительно 97% идентична, по меньшей мере на приблизительно 98% идентична или по меньшей мере на приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности в SEQ ID NO: 89; а вариабельная область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на приблизительно 82% идентична, по меньшей мере на приблизительно 85% идентична, по меньшей мере на приблизительно 87% идентична, по меньшей мере на приблизительно 90% идентична, по меньшей мере на приблизительно 92% идентична, по меньшей мере на приблизительно 95% идентична, по меньшей мере на приблизительно 97% идентична, по меньшей мере на приблизительно 98% идентична или по меньшей мере на приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности в SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах реализации для осуществления способов лечения и применений, описанных в данном документе, CD3-связывающий белок доставляют способом, согласующимся с традиционными методиками, связанными с ведением заболевания или нарушения, для которого предусмотрено лечение. В соответствии с описанным в данном документе изобретением терапевтически эффективное количество CD3-связывающего белка вводят нуждающемуся в таком лечении субъекту в течение времени и в условиях, достаточных для предотвращения или лечения заболевания или нарушения.

Субъекты для введения описанных в данном документе CD3-связывающих белков включают пациентов с высоким риском развития конкретного нарушения, а также пациентов, у которых присутствует такое нарушение. Как правило, субъекту был поставлен диагноз нарушения, для которого предусмотрено лечение. Кроме того, во время курса лечения можно проводить наблюдение субъектов в отношении какого-либо изменения в нарушении (например, в отношении увеличения или уменьшения клинических симптомов нарушения). Также в некоторых вариациях субъект не страдает от другого нарушения, тре-

бующего лечение, которое включает нацеливание на CD3-экспрессирующие клетки.

При профилактическом применении фармацевтические композиции или медикаменты вводят пациенту, восприимчивому или каким-либо другим образом подверженному риску появления конкретного нарушения, в количестве, достаточном для устранения или снижения риска или замедления начала нарушения. При терапевтическом применении композиции или медикаменты вводят пациенту с подозрением или уже страдающему от такого нарушения в количестве, достаточном для лечения или, по меньшей мере, частичного подавления, симптомов нарушения и его осложнений. Количество, необходимое для этого, называется в данном документе терапевтически эффективной дозой или количеством. Как в профилактическом, так и в терапевтическом режимах агенты обычно вводят в нескольких дозировках, пока не будет достигнут достаточный ответ. Как правило, этот ответ отслеживают и применяют повторные дозы при ослаблении необходимого ответа.

Для выявления пациентов для лечения в соответствии со способами согласно изобретению можно применять общепринятые методы исследований для определения факторов риска, связанных с конкретными нарушениями, или для определения статуса существующего нарушения, выявленного у субъекта. Такие способы могут включать, например, определение того, есть ли у индивида родственники, у которых было диагностировано конкретное нарушение. Методы исследований также могут включать, например, традиционные исследования для определения семейного статуса в отношении конкретного нарушения, имеющего компонент наследственности. Например, также известно, что различные типы рака имеют определенные ненаследуемые компоненты. Ненаследуемые компоненты рака включают, например, мутации в некотором количестве генов, которые являются трансформирующими (например, Ras, Raf, EGFR, cMet и другие), присутствие или отсутствие определенных молекул HLA и рецепторов подавления цитотоксичности (KIR) или механизмы, посредством которых раковые клетки способны модулировать иммунную супрессию клеток наподобие NK-клеток и Т-клеток, как прямым, так и непрямым образом (см., например, Ljunggren and Malmberg, *Nature Rev. Immunol.* 7:329-339, 2007; Boyton and Altmann, *Clin. Exp. Immunol.* 149:1-8, 2007). С этой целью обычно можно использовать нуклеотидные зонды, чтобы выявить индивидов, несущих генетические маркеры, связанные с конкретным представляющим интерес нарушением. Кроме того, в данной области техники известен широкий спектр иммунологических методов, применимых для выявления маркеров конкретного нарушения. Например, в данной области техники доступны и хорошо известны различные методы иммуноанализа ELISA, в которых используются зонды моноклональных антител для выявления антигенов, связанных с конкретными опухолями. скрининг можно осуществлять согласно показаниям при известной симптоматике, возрастных факторах, связанных факторах риска для пациента и т.д. Эти способы позволяют лечащему врачу без проблем отобрать для лечения пациентов, нуждающихся в способах, описанных в данном документе. В соответствии с этими способами нацеливание на патологические, экспрессирующие опухолевый антиген клетки, можно осуществлять в качестве независимой программы лечения или в качестве сопутствующего, вспомогательного или координированного режима лечения наряду с другими вариантами лечения.

Для введения CD3-связывающий белок может быть получен в составе фармацевтической композиции. Фармацевтическая композиция может содержать: (i) CD3-связывающий полипептид; и (ii) фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество. Фармацевтическую композицию, содержащую CD3-связывающий белок, можно составлять в соответствии с известными способами приготовления фармацевтически применимых композиций, в которых терапевтическая молекула находится в смеси с фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или вспомогательным веществом. Говорят, что носитель является "фармацевтически приемлемым носителем", если его введение переносимо принимающим его пациентом. Одним примером фармацевтически приемлемого носителя является стерильный фосфатно-буферный солевой раствор. Другие подходящие носители, разбавители или вспомогательные вещества хорошо известны специалистам в данной области техники. (Смотрите, например, Gennaro (ed.), *Remington's Pharmaceutical Sciences* (Mack Publishing Company, 19th ed. 1995).) Составы могут дополнительно включать одно или более вспомогательных веществ, консервантов, солюбилизаторов, буферных агентов, альбумин для предотвращения потерь белка на поверхностях флаконов и т.д.

Фармацевтическая композиция может быть составлена в дозированной форме, выбранной из группы, состоящей из: пероральной единичной дозированной формы, внутривенной единичной дозированной формы, интраназальной единичной дозированной формы, единичной дозированной формы в виде суппозитория, интрадермальной единичной дозированной формы, внутримышечной единичной дозированной формы, внутрибрюшинной единичной дозированной формы, подкожной единичной дозированной формы, эпидуральной единичной дозированной формы, подъязычной единичной дозированной формы и интрацеребральной единичной дозированной формы. Пероральная единичная дозированная форма может быть выбрана из группы, состоящей из: таблеток, пилюль, пластинок, капсул, порошков, леденцов, гранул, растворов, суспензий, эмульсий, сиропов, эликсиров, составов с замедленным высвобождением, аэрозолей и спреев.

Фармацевтическую композицию, содержащую терапевтическое средство на основе CD3-связывающего белка, можно вводить субъекту в терапевтически эффективном количестве. В соответствии со спо-

собами согласно настоящему изобретению CD3-связывающий белок можно вводить субъектам посредством различных путей введения, включая, например, внутримышечный, подкожный, внутривенный, внутриартериальный, внутрисуставной, парентеральный, интраназальный, внутрилегочный, трансдермальный, интраплевральный, интратекальный и пероральный пути введения. В целях предотвращения и лечения антагонист можно вводить субъекту в виде одной болюсной доставки, посредством непрерывной доставки (например, непрерывной трансдермальной доставки) в течение длительного периода времени или согласно протоколу повторного введения (например, на ежечасном, ежедневном, еженедельном или ежемесячном базисе).

В этом контексте определение эффективных дозировок, как правило, основано на исследованиях на животных моделях с последующими клиническими исследованиями на людях и руководствуется определением эффективных дозировок и протоколов введения, которые существенно снижают появление или тяжесть заболевания субъекта у модельных субъектов. Эффективные дозы композиций согласно настоящему изобретению варьируются в зависимости от множества разных факторов, включая средства введения, целевой участок, физиологическое состояние пациента, является ли пациент человеком или животным, другие вводимые медикаменты, является ли лечение профилактическим или терапевтическим, а также специфическую активность самой композиции и ее способность вызывать необходимый ответ у индивида. Обычно пациент является человеком, но в случае некоторых заболеваний пациент может быть отличным от человека млекопитающим. Как правило, схемы дозирования корректируют так, чтобы обеспечить оптимальный терапевтический ответ, т.е. оптимизировать безопасность и эффективность. Соответственно, терапевтически эффективное количество также является таким, при котором любые нежелательные побочные явления перевешиваются благоприятным действием введения описанного в данном документе CD3-связывающего белка. Для введения CD3-связывающего белка дозировка может находиться в диапазоне от приблизительно 0,1 мкг до 100 мг/кг или от 1 мкг/кг до приблизительно 50 мг/кг, и более обычно от 10 мкг до 5 мг/кг массы тела субъекта. В более конкретных вариантах реализации эффективное количество агента составляет от приблизительно 1 мкг/кг до приблизительно 20 мг/кг, от приблизительно 10 мкг/кг до приблизительно 10 мг/кг или от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг. Дозировки в пределах этого диапазона могут быть достигнуты посредством одного или некоторого количества введений, включая, например, некоторое количество введений в сутки или ежесуточное, еженедельное, раз в две недели или ежемесячное введение. Например, в определенных вариациях схема состоит из начального введения, за которым следует некоторое количество последовательных введений с недельными или двухнедельными интервалами. Другая схема состоит из начального введения, за которым следует некоторое количество последовательных введений с месячными или двухмесячными интервалами. В альтернативном варианте введение может осуществляться на нерегулярном базисе согласно показаниям на основании наблюдаемых клинических симптомов нарушений.

Дозировка фармацевтической композиции может варьироваться лечащим врачом для поддержания необходимой концентрации в целевом участке. Например, при выборе внутривенного способа введения локальная концентрация агента в кровотоке в целевой ткани может составлять приблизительно 0,01-50 наномолей композиции на литр, иногда от приблизительно 1,0 наномоля на литр до 10, 15 или 25 наномолей на литр, в зависимости от статуса субъекта и предполагаемого измеряемого ответа. Более высокие или низкие концентрации можно выбирать на основании способа доставки, например, трансэпидермальной доставки и доставки через поверхность слизистой оболочки. Дозировку также следует корректировать на основании скорости высвобождения вводимого состава, например, назального спрея и порошка, пероральных или инъекционных частиц с замедленным высвобождением, трансдермальных составов и т. д. Для достижения одинакового уровня сывороточной концентрации, например, частицы с медленным высвобождением со скоростью высвобождения 5 наномолей (в стандартных условиях) надо было бы вводить в дозировке, приблизительно в два раза большей, чем частицы со скоростью высвобождения 10 наномолей.

Анти-CD3 терапевтическое средство (например, CD3-связывающий белок) также можно вводить в суточной дозировке, составляющей от приблизительно 0,001 до приблизительно 10 миллиграммов (мг) на килограмм (мг/кг) массы тела, предпочтительно применять в виде одной суточной дозы или разделенных доз от двух до шести раз в сутки. При введении взрослому пациенту-человеку терапевтически эффективное количество можно вводить в дозах в диапазоне от 0,2 мг до 800 мг на дозу, включая, но не ограничиваясь этим, 0,2 мг на дозу, 0,5 мг на дозу, 1 мг на дозу, 5 мг на дозу, 10 мг на дозу, 25 мг на дозу, 100 мг на дозу, 200 мг на дозу и 400 мг на дозу, а множественные, обычно последовательные суточные дозы можно вводить в течение курса лечения. Анти-CD3 терапевтическое средство можно вводить в разное время суток. В одном варианте реализации оптимальную терапевтическую дозу можно вводить вечером. В другом варианте реализации оптимальную терапевтическую дозу можно вводить утром. Общая суточная дозировка анти-CD3 терапевтического средства может в одном варианте реализации находиться в диапазоне от приблизительно 1 мг до приблизительно 2 г и часто находится в диапазоне от приблизительно 100 мг до приблизительно 1,5 г, и наиболее часто находится в диапазоне от приблизительно 200 мг до приблизительно 1200 мг. В случае типичного 70 кг взрослого человека общая суточная доза анти-CD3 терапевтического средства может находиться в диапазоне от приблизительно 2 мг до приблизительно 1200 мг и часто нахо-

дится в диапазоне, как указано выше, от приблизительно 0,2 мг до приблизительно 800 мг.

Что касается конкретно лечения солидных опухолей, протоколы для оценки конечных показателей и противоопухолевой активности хорошо известны в данной области техники. Хотя оценка опухолевого ответа может по-разному определяться в каждом протоколе, на сегодняшний день критерии RECIST (критерии оценки ответа при солидных опухолях - от англ. "Response evaluation Criteria in solid tumors") считаются рекомендованным руководством для оценки опухолевого ответа Национальным институтом рака (см. Therasse et al., J. Natl. Cancer Inst. 92:205-216, 2000). В соответствии с критериями RECIST опухолевый ответ означает снижение или устранение всех определяемых поражений или метастазов. В общем случае заболевание считается определяемым, если оно включает поражения, для которых можно провести точные измерения по меньшей мере в одном измерении с результатом ≥ 20 мм в случае традиционных методов или ≥ 10 мм в случае спирального КТ-сканирования, с краями, четко определяемыми методом медицинской фотографии или рентгенографии, компьютерной аксиальной томографии (КТ), магнито-резонансной томографии (МРТ) или клинического обследования (в случае внешних поражений). Неопределяемое заболевание означает, что заболевание состоит из поражений < 20 мм в случае традиционных методов или < 10 мм в случае спирального КТ-сканирования и действительно неизмеряемых поражений (слишком мелких для точного измерения). Неопределяемое заболевание включает плевральные выпоты, перитонеальные выпоты и заболевание, подтверждаемое непрямыми свидетельствами.

Для протоколов для оценки ответа солидных опухолей необходимы критерии объективного статуса. Типовые критерии включают следующие: (1) полный ответ (ПО), определяемый как полное исчезновение определяемого заболевания; отсутствие новых поражений; отсутствие связанных с заболеванием симптомов; отсутствие свидетельств неопределяемого заболевания; (2) частичный ответ (ЧО), определяемый как 30% суммарное снижение наибольшего диаметра целевых поражений; (3) прогрессирующее заболевание (ПЗ), определяемое как 20% суммарное увеличение наибольшего диаметра целевых поражений или появление любых новых поражений; (4) стабильное заболевание или отсутствие ответа, определяемое как не попадающее под определение ПО, ЧО или прогрессирующего заболевания. (См. Therasse et al., выше.) Дополнительные конечные показатели, принятые в области техники онкологии, включают общую выживаемость (ОВ), выживаемость без признаков заболевания (ВБПЗ), частоту объективного ответа (ЧОО), время до прогрессирования (ВДП) и выживаемость без прогрессирования (ВВП) (см. Guidance for Industry: Clinical Trial Endpoints for the Approval of Cancer Drugs and Biologics, April 2005, Center for Drug Evaluation and Research, FDA, Rockville, MD.)

Фармацевтические композиции могут поставляться в виде набора, содержащего контейнер, который содержит описанную в данном документе фармацевтическую композицию. Фармацевтическая композиция может быть находиться, например, в форме инъекционного раствора для одной или нескольких доз или в виде стерильного порошка, которые восстанавливают перед инъекцией. В альтернативном варианте такой набор может включать распылитель сухого порошка, жидкий аэрозольный генератор или небулайзер для введения фармацевтической композиции. Такой набор может дополнительно содержать письменную информацию о показаниях и применении фармацевтической композиции.

Данное изобретение станет более понятным с помощью следующих примеров, которые исключительно иллюстрируют, но никоим образом не ограничивают изобретение.

Примеры

Пример 1. Создание стабилизированных CD3-связывающих молекул.

Для улучшения термостабильности CD3-связывающей молекулы DRA222, сконструированного варианта гуманизированного антитела Cris7, вариабельные домены Cris7 повторно гуманизировали, используя альтернативные каркасные последовательности человеческой зародышевой линии. Вариабельный домен тяжелой цепи DRA222 соответствует SEQ ID NO: 87, а вариабельный домен легкой цепи DRA222 соответствует SEQ ID NO: 90. Fc DRA222 иногда называется TSC311 или TSC312 (аминокислотная последовательность соответствует SEQ ID NO: 2; нуклеотидная последовательность соответствует SEQ ID NO: 1). См., Reinherz E.L. et al. (eds.), *Leukocyte typing II*, Springer Verlag, New York, (1986) в отношении описания родительского антитела Cris7. Также были сделаны дополнительные изменения для улучшения аффинности и термостабильности.

Способы.

Для получения результатов, приведенных в этом примере, применяли следующие способы.

Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК).

Термограммы для рекомбинантных белков, очищенных стандартными методами очистки, получали на приборе GE VP-Capillary DSC, оборудованном автосэмплером. Приблизительно 550 мкл каждого образца (как правило, 0,5 мг/мл) в ФСБ вводили в образец капиллярным способом, используя ФСБ в качестве контроля во втором капилляре. Анализ проводили при температурах от 25°C до 130°C со скоростью нагрева 1°C в минуту. Обратная связь была установлена на низком уровне, а применяемое время отбора проб составляло 8 мс. Анализ данных проводили, используя Origin. Термограмму образца корректировали в отношении теплоемкости буфера, вычитая предыдущий скан буфер/буфер, используя базовый раствор для состава, и нормализовали на основании концентрации образца и проводили корректировку на фон.

Дифференциальная сканирующая флуориметрия (ДСФ).

Термограммы для рекомбинантных белков, очищенных стандартными методами очистки, также получали в высокопроизводительном формате путем проведения анализа ДСФ на устройстве для ПЦР в режиме реального времени (Bio-Rad iCycler iQ5). Приблизительно 40 мкл каждого образца в концентрации 0,8 мг/мл в ФСБ смешивали с 5 мкл предварительно разведенного оранжевого красителя SYPRO (Каталог # S-6650, Life Technologies). Установленный протокол получения кривой плавления соответствовал повышению температуры от 25 до 90°C, с шагом 0,2°C. Флуоресцентные сигналы регистрировали с помощью набора фильтров для флуоресцентного красителя Техасского красного, который состоит из 575/30X фильтра возбуждения и 620/30M эмиссионного фильтра. Полученные данные по интенсивности флуоресценции экспортировали в программное обеспечение для анализа данных Prism 6 (GraphPad Software, Inc.). Тепловое значение T_m для белка рассчитывали как температуру, когда вторая производная от интенсивности флуоресценции по температуре $-d(RUF)/dT^2=0$.

Проточная цитометрия для человеческих Т-клеток Jurkat.

Исследования связывания проводили с помощью стандартных процедур окрашивания на основе проточной цитометрии, используя линию Т-клеток CD3⁺ Jurkat. Все процедуры мечения и промывки проводили в 96-луночных планшетах с U-образным дном в солевом буфере с 3% БСА и 2 мМ ЭДТА. Клетки Jurkat высевали с плотностью 200 000 клеток на лунку и инкубировали с рядом концентраций исследуемых молекул от 0,1 до 200 нМ в 50 мкл объеме/лунку в течение 30 мин на льду. Клетки три раза промывали, а затем инкубировали еще в течение 30 мин на льду с флуоресцентно-меченым минимально перекрестно-реагирующим вторичным поликлональным антителом, F(ab')² козым античеловеческим IgG, (Jackson ImmunoResearch Laboratories) и красителем для оценки жизнеспособности 7-AAD. Затем клетки дважды промывали и анализировали образцы на проточном цитометре BD LSRII. Файлы образцов анализировали с помощью программного обеспечения FlowJo; среднюю интенсивность флуоресценции (СИФ) живой популяции клеток Jurkat в каждой лунке рассчитывали после проведения гейтинга на живых клетках (прямое и боковое рассеяние, затем клетки 7-AAD).

Моделирование гомологии, анализ подверженности пространственной агрегации.

В программе Accelrys Discovery Studio 4.0 конструировали модели гомологии для вариабельных доменов, используя протоколы Annotate Antibody Sequence (аннотировать последовательность антитела), Identify Framework Templates (определить каркасные матрицы), Model Antibody Framework (смоделировать каркас антитела) и Model Antibody Loops (смоделировать петли антитела). Анализ подверженности пространственной агрегации также проводили в программе Accelrys Discovery Studio 4.0, используя протокол Calculate Aggregation Scores (рассчитать показатели агрегации).

Анализ высвобождения хрома для человеческих Т-клеток.

Целевые положительные опухолевые линии клеток (линии клеток MDA-MB-231, Kasumi-2, C4-2B и Ramos) культивировали в соответствии с предоставленными протоколами. Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) выделяли из человеческой крови, используя стандартный градиент фикола. Выделенные клетки промывали в солевом буфере. Т-клетки дополнительно выделяли, используя набор для выделения Т-клеток Pan T-cell Isolation Kit (каталог #130-096-535, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany), следуя протоколу производителя. Выделенные Т-клетки аликвотировали и длительное время хранили в жидком азоте. Предварительно подготовленные Т-клетки размораживали за день до анализа в теплой среде RPMI с 10% человеческой сывороткой. Во время анализа к предварительно подготовленным Т-клеткам (приблизительно 100 000 на лунку) добавляли концентрации биспецифических молекул с конечной концентрацией в диапазоне от 200 до 0,01 пМ. Контроль общего лизиса обеспечивали, включая 0,04% NP-40 в качестве обработки. Приблизительно $2,5 \times 10^6$ клеток-мишеней обрабатывали 0,125 мКи ⁵¹Cr и инкубировали в течение 90 мин при 37°C, во влажном инкубаторе с 5% CO₂. После инкубации клетки 4 раза промывали разведенной аналитической средой (RPMI с 1% человеческой сывороткой) и ресуспендировали в 12,5 мл полной аналитической среды (RPMI с 10% человеческой сывороткой). Из этой суспензии распределяли по 50 мкл на лунку в 96-луночные планшеты с U-образным дном (приблизительно 10000 клеток на лунку) для получения общего объема 200 мл на лунку и соотношения между Т-клетками и клетками-мишенями 10:1. Нулевой контроль лизиса обеспечивался только клетками-мишенями, исключая Т-клетки.

Планшеты инкубировали в течение 4 ч (и случайно также в течение 24 ч) при 37°C, 5% CO₂ во влажном инкубаторе, после чего их центрифугировали при 1000 об/мин в течение 3 мин и переносили по 25 мкл супернатанта из каждой лунки в соответствующую лунку 96-луночного планшета для образцов Luma. Образцы оставляли сохнуть на воздухе в химическом шкафу в течение 18 ч, а затем считывали радиоактивность с помощью микропланшетного сцинтилляционного счетчика TopCount (PerkinElmer), используя стандартный протокол.

Процент специфического лизиса рассчитывали, используя формулу:

$$\left(\frac{\text{сигнал в обработанном лекарственным препаратом образце} - \text{фоновый сигнал из образцов, содержащих только клетки-мишени}}{\text{сигнал в лунках для оценки общего лизиса} - \text{фоновый сигнал из образцов, содержащих только клетки-мишени}} \right) \times 100.$$

Проточная цитометрия для Т-клеток яванского макака.

Периферическую кровь яванского макака, собранную в гепариновые пробирки, перевозили в течение ночи от поставщика (Charles River laboratories). После получения клетки периферической крови (МКПК) выделяли, используя пробирки для разделения по градиенту плотности (пробирки СРТ, Beckton Dickinson). Кровь разводили 1 к 1,5 в солевом буфере перед перенесением в пробирки СРТ. Пробирки СРТ центрифугировали, а разделенную популяцию МКПК собирали и промывали солевым буфером, содержащим 0,2% БСА и 5 нМ ЭДТА. Оставшиеся в препарате красные кровяные тельца лизировали, используя лизисный буфер на основе хлорида аммония и калия для красных кровяных телец. Клетки промывали в течение дополнительного времени, чтобы удалить оставшиеся тромбоциты. Этапы мечения и промывки МКПК проводили в 96-луночных планшетах с U-образным дном в солевом буфере с 0,2% БСА и 2 мМ ЭДТА. МКПК высевали с плотностью 200000 клеток на лунку и инкубировали с рядом концентраций исследуемых молекул от 0,1 до 300 нМ в 50 мкл объеме/лунку в течение 30 мин на льду. Клетки три раза промывали, а затем инкубировали еще в течение 30 мин на льду с флуоресцентно-мечеными антителами к CD2 и CD16 отличных от человека приматов (Biolegend), антиидиотипическими антителами к анти-PSMA или анти-CD37 связывающим доменам и красителем для оценки жизнеспособности 7-AAD. Образцы дважды промывали, фиксировали в течение 20 мин на льду 1% раствором формальдегида в солевом растворе, снова промывали и анализировали на проточном цитометре BD LSRII. Файлы образцов анализировали с помощью программного обеспечения FlowJo; среднюю интенсивность флуоресценции (СИФ) связывания исследуемых молекул на Т-клетках в каждой лунке рассчитывали после проведения гейтинга на живых Т-клетках (прямое и боковое рассеяние, клетки 7-AAD⁻, CD2⁺ CD16⁻).

Анализ высвобождения хрома для МКПК яванского макака.

Линии клеток С4-2В и Ramos культивировали в соответствии с предоставленными протоколами. Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) выделяли из периферической крови яванского макака, используя пробирки для препаратов крови BD VACUTAINER® СРТ™ с гепарином натрия (Кат. #362753). Выделенные клетки промывали в солевом буфере. К выделенным МКПК (приблизительно 100 000) добавляли концентрации биспецифических молекул с конечной концентрацией в диапазоне от 10000 до 0,0128 пМ. Контроль общего лизиса обеспечивали, включая 0,04% NP-40 в качестве обработки. Приблизительно 5×10^6 клеток-мишеней С4-2В или клеток Ramos обрабатывали 0,25 мКи ⁵¹Сг и инкубировали в течение 75 мин при 37°C. После инкубации клетки 4 раза промывали клеточной культуральной средой (RPMI с 10% ФБС, 1% заменимых аминокислот, 1% пируватом натрия, глутамином Na и 20 мМ ГЭПЭС) и ресуспендировали в 25 мл среды. Из этой суспензии распределяли по 50 мкл на лунку в 96-луночные планшеты с U-образным дном (приблизительно 10000 клеток/лунка) для получения соотношения между Т-клетками и клетками-мишенями 10:1. Планшеты инкубировали в течение 4 ч при 37°C, 5% CO₂ во влажном инкубаторе, после чего их центрифугировали при 225 об/мин в течение 3 мин и перенесли по 25 мкл супернатанта из каждой лунки в соответствующую лунку 96-луночного планшета для образцов Luma. Образцы оставляли сохнуть на воздухе в химическом шкафу в течение 18 ч, а затем считывали радиоактивность с помощью сцинтилляционного счетчика TopCount, используя стандартный протокол.

Результаты.

Этап 1.

CD3 дание исходных гуманизированных CD3-связывающих конструкций.

Вариабельные домены Cris7 повторно гуманизировали, используя четыре человеческие вариабельные тяжелые последовательности зародышевой линии (IGHV1-2*02 (H7), IGHV1-46*02 (H8), IGHV1-3*01(H9) и IGHV1-69*02 (H10)) и 2 человеческие вариабельные легкие последовательности зародышевой линии (IGKV3-11*01 (L4) и IGKV1-33*01 (L5)), на основании гомологии последовательностей. Всего было создано 12 конструкций одноцепочечного вариабельного фрагмента (scFv) в формате Fc анти-CD3 scFv с применением линкера H75 (QRHNSSLNTGTQMAGHSPNS; SEQ ID NO: 148) (табл. 3). Последовательности 12 конструкций и контрольная молекула Fc DRA222 (TSC311 или TSC312) приведены в табл. 14.

Таблица 3. Композиция вариабельного домена исходных конструкций

Тяжелая цепь	Легкая цепь		
	L1 (оригинальная легкая цепь)	L4	L5
H7	H7L1 (TSC313)	H7L4 (TSC314)	H7L5 (TSC315)
H8	H8L1 (TSC316)	H8L4 (TSC317)	H8L5 (TSC318)
H9	H9L1 (TSC319)	H9L4 (TSC320)	H9L5 (TSC321)
H10	H10L1 (TSC322)	H10L4 (TSC323)	H10L5 (TSC324)

Все 12 конструкций временно экспрессировали в клетках HEK293, очищали и исследовали в отношении связывания с Т-клетками Jurkat и оценивали в отношении термостабильности. Конструкции, со-

державшие легкую цепь L4 или тяжелую цепь H9, имели более низкие уровни экспрессии белка (см. колонку с конечным выходом в табл. 4) и/или более высокие уровни высокомолекулярных агрегатов (см. колонку аналитической ЭХ в табл. 4) и были исключены на последующем этапе оптимизации. Хотя большинство других конструкций демонстрировали некоторое улучшение термостабильности scFv по сравнению с оригинальными гуманизированными доменами (TSC312) согласно результатам измерений средней точки термической денатурации (Tm) методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) (табл. 5), уровень насыщения связывания, наблюдаемый для Т-клеток Jurkat, был снижен до разных уровней (фиг. 1). Наиболее стабильная конструкция, TSC324, продемонстрировала приблизительно 50% снижение наблюдаемой медианной интенсивности флуоресценции при насыщении и двукратное увеличение EC₅₀ связывания (3,6 нМ) по сравнению с оригинальной гуманизированной конструкцией (TSC312, также известной как DRA222).

Таблица 4. Экспрессия и степень очистки временно экспрессируемого материала

Молекула	Название в базе данных	Титр на 1-ом этапе (мкг/мл)	Конечный выход (мг)	Аналитическая ЭХ – основной пик (%)	Аналитическая ЭХ – восстановление (%)
Fc DRA222	TSC312	43,8	4,12	92,6	100,3
Fc H7L1	TSC313	35,2	2,66	95,3	90,2
Fc H7L4	TSC314	57,8	5,78	58,8	96,0
Fc H7L5	TSC315	52,6	6,99	90,6	93,3
Fc H8L1	TSC316	39,9	3,73	93,4	99,5
Fc H8L4	TSC317	52,9	4,95	66,5	97,6
Fc H8L5	TSC318	48,1	4,83	92,1	96,2
Fc DRA222	TSC312	16,1	1,41	95,4	97,8
Fc H9L1	TSC319	8,0	0,71	80,0	85,8
Fc H9L4	TSC320	43,1	3,60	69,3	102,5
Fc H9L5	TSC321	31,1	2,66	92,6	98,6
Fc H10L1	TSC322	45,6	3,94	73,2	56,7
Fc H10L4	TSC323	50,6	4,58	67,3	106,7
Fc H10L5	TSC324	33,1	2,85	90,7	104,0

Таблица 5. Термостабильность, определенная методом дифференциальной сканирующей калориметрии

Молекулы	Tm анти-CD3 scFv (°C)	Улучшение в Tm (по сравнению с DRA222)
TSC312 (DRA222)	53,02	
TSC313 (H7L1)	54,47	1,45
TSC315 (H7L5)	54,99	1,97
TSC316 (H8L1)	53,70	0,68
TSC318 (H8L5)	55,16	2,14
TSC312 (H7L1)	52,88	-0,14
TSC321 (H9L5)	53,10	0,08
TSC324 (H10L5)	55,83	2,81

Этап 2.

Исходная оптимизация для восстановления связывания с CD3.

Целью следующего этапа было улучшение связывания с CD3 с сохранением улучшенной термостабильности по сравнению с DRA222. На этом этапе были внесены три дополнительные последовательности легкой цепи. В основе первой легкой цепи лежала последовательность L5, содержащая две аминокислоты, замененные обратно на родительские мышинные остатки, в позициях 52 и 53 (LL на RW), и эта легкая цепь была названа L6. Также использовали две дополнительные легкие цепи зародышевой линии (IGKV1-39*01 (L7) и IGKV3D-20*1 (L8), содержащие такие же две обратно замененные аминокислоты в позициях 52 и 53. 3 новые легкие цепи (L6, L7 и L8) комбинировали с 3 тяжелыми цепями (H7, H8 и H10) в формате Fc анти-CD3 scFv для получения следующих комбинаций scFv (табл. 6).

Таблица 6. Композиция вариабельного домена исходных конструкций

Тяжелая цепь	Легкая цепь		
	L6	L7	L8
H7	H7L6 (TSC334)	H7L7 (TSC335)	H7L8 (TSC336)
H8	H8L6 (TSC337)	H8L7 (TSC338)	H8L8 (TSC339)
H10	H10L6 (TSC340)	H10L7 (TSC341)	H10L8 (TSC342)

Эти 9 конструкций временно экспрессировали в клетках HEK293 и исследовали в отношении качества, экспрессии, связывания и термостабильности белка. Последовательности этих 9 конструкций приведены в табл. 14. Серия молекул H10 (TSC340, TSC341, TSC342) демонстрировала наилучшее связывание среди всех новых конструкций (фиг. 2) и достигала сравнимых с TSC312 уровней насыщения связывания на T-клетках Jurkat. Однако измеренная EC_{50} связывания все еще была в два раза выше, чем у оригинальной молекулы TSC312. Серия молекул H10 также демонстрировала существенное улучшение термостабильности согласно измеренному повышению T_m по сравнению с TSC312 с помощью дифференциальной сканирующей флуориметрии (фиг. 3). Из этих трех молекул в качестве лидирующей молекулы для проведения дополнительной оптимизации был выбран TSC342 благодаря улучшенной термостабильности.

Затем проводили исследования родительской мышинной последовательности в отношении потенциальных горячих точек для введения мутаций для улучшения связывания. Три остатка были выбраны для проведения обратной замены и независимо мутированы обратно: G27Y (TSC370), M53I (TSC371) и I21M (TSC372). Исследования связывания этих трех конструкций на T-клетках Jurkat выявило, что мутация G27Y в тяжелой цепи восстанавливала связывание с CD3 до сравнимых с оригинальной конструкцией TSC312 уровней (фиг. 4). Стабильность этих трех конструкций также оценивали методом ДСК. Хотя мутация G27Y не улучшала T_m , неожиданно обе оставшиеся мутации, M53I в тяжелой цепи и I21M в легкой цепи, независимо улучшали T_m на 3–4°C (табл. 7).

Таблица 7. Термостабильность мутантов, сконструированных для улучшения связывания

Мутации	Конструкции	T_m (°C)	ΔT_m (°C)
Без мутации	TSC312	52,8	-
TSC342 G27Y	TSC370	53,6	0,8
TSC342 M53I	TSC371	55,97	3,17
TSC342 I21M	TSC372	56,55	3,75

Этап 3.

Этап конечной оптимизации для улучшения термостабильности. Модель гомологии TSC370 исследовали, используя подверженность пространственной агрегации, для выявления горячих точек для потенциальной агрегации. Было выявлено, что одна мутация, A9P в тяжелой цепи, уменьшает потенциальную горячую точку агрегации в модели гомологии. Эту мутацию вносили в каркас TSC370 для получения TSC390. Одна эта мутация оказывала слабое действие на улучшение T_m (0,25°C). Мутацию A9P комбинировали с описанными выше мутациями M53I и I21M для создания следующих конструкций Fc анти-CD3 (табл. 8):

Таблица 8. Обоснование для группы мутаций в конструкциях четвертого раунда

Конструкции	G27Y (улучшение аффинности)	A9P (улучшение стабильности)	M53I (улучшение стабильности)	I21M (улучшение стабильности)
TSC390	X	X		
TSC391	X	X	X	
TSC392	X	X		X
TSC393	X		X	X
TSC394	X	X	X	X

Таблица 9. Термостабильность конструкций четвертого раунда согласно оценке методом ДСК

Мутации	Название	T_m	ΔT_m
Без мутации	TSC312	52,8	-

TSC370_A9P	TSC390	53,05	0,25
TSC370_A9P_M53I	TSC391	56,57	3,77
TSC370_A9P_I21M	TSC392	59,15	6,35
TSC370_M53I_I21M	TSC393	58,29	5,49
TSC370_A9P_M53I_I21M	TSC394	59,3	6,5

Комбинирование двух или более этих мутаций, видимо, оказывало благоприятное действие на термостабильность, на что указывает существенное повышение T_m согласно анализу ДСК (табл. 9). Неожиданно мутация А9Р также оказалась синергичной с другими мутациями, обеспечивая приблизительно от 1 до 2,6 С повышение стабильности по сравнению с соответствующими конструкциями без мутации А9Р. Что более важно, стабилизирующие мутации не оказывали негативное влияние на связывание с CD3 (фиг. 5).

Также были созданы биспецифические молекулы, нацеленные на PSMA и CD3 с использованием этих новых анти-CD3 scFv молекул для исследования действия, в случае его наличия, изменений в анти-CD3 scFv на активность перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности (ПТКЦ). Оригинальная гуманизированная конструкция (DRA222) является очень эффективной в отношении перенаправления Т-клеточной цитотоксичности (см., например, US 2014/0161800). Новые конструкции исследовали в отношении их способности демонстрировать аналогичную активность. Были созданы четыре разные анти-PSMA x анти-CD3 конструкции с использованием TSC391, TSC392, TSC393 и TSC394, которые назвали TSC408, TSC409, TSC410 и TSC411 соответственно. Все четыре конструкции имели сходную активность ПТКЦ с молекулой, созданной с родительским DRA222 scFv (TSC249) (фиг. 6), подтверждая, что цитотоксическая активность, а также связывание были сравнимы с человеческими Т-клетками.

Этап 4.

Этап оптимизации для восстановления перекрестной реактивности и активности для яванских макаков.

Ранее было показано, что оригинальная гуманизированная конструкция (DRA222) также связывает Т-клетки яванского макака и перенаправляет их цитотоксическую активность на клетки-мишени в случае применения биспецифического формата. TSC408, TSC409, TSC410 и TSC411 оценивали в отношении связывания и цитотоксической активности с Т-клетками яванского макака. Неожиданно TSC408, TSC409, TSC410 и TSC411 продемонстрировали сниженное связывание с Т-клетками яванского макака (фиг. 7А и 7В) и существенное снижение активности ПТКЦ с применением Т-клеток яванского макака в качестве эффекторных клеток по сравнению с анти-PSMA x анти-CD3 биспецифической молекулой, содержащей DRA222 (фиг. 8А и 8В). Это оказалось непредвиденным, так как связывание и активность с человеческими Т-клетками были непосредственно сравнимы с конструкциями, содержащими DRA222. В попытке восстановить связывание с CD3 яванского макака использовали два подхода. Один подход состоял в комбинировании легкой цепи из TSC394 с тяжелой цепью из DRA222 или в комбинировании тяжелой цепи из TSC394 с легкой цепью из DRA222, чтобы посмотреть, вносят ли остатки каркасной области, специфические в отношении одной каркасной области, свой вклад в связывание. Второй подход состоял в проведении обратных мутаций остатков в позициях 86 и 87 в легкой цепи TSC394. Остатки в этих двух позициях взаимодействуют с CDR легкой цепи, что может влиять на связывание с CD3 яванского макака. Эти варианты были внесены в анти-CD37 x анти-CD3 биспецифические молекулы (табл. 10). Некоторые из этих вариантов, в особенности TSC455, TSC456 и TSC452, демонстрировали улучшенное связывание с Т-клетками яванского макака по сравнению с анти-CD37 x TSC394 (TSC445), что отображается более высокими уровнями связывания при насыщающих концентрациях (фиг. 9). Также проводили анализ ПТКЦ яванского макака, который показал, что TSC456 и TSC452 имели активность, сравнимую с CAS105 (фиг. 10). Кроме того, эти молекулы имели превосходящую термостабильность по сравнению с CAS105 (табл. 11), на что показывает более высокое значение T_m1 в анализе ДСК. Выравнивание DRA222 scFv, TSC455 scFv и TSC456 scFv показано на фиг. 13.

Таблица 10. Пятый раунд оптимизированных конструкций

Анти-CD3 конструкции	Описание анти-CD37 X анти-CD3 биспецифических молекул
CAS105	анти-CD37 x DRA222
TSC445	анти-CD37 x TSC394
TSC452	анти-CD37 x (TSC394VL+ DRA222 VH)
TSC453	анти-CD37 x (TSC394VH + DRA222 VL)
TSC454	анти-CD37 x TSC394 E86D
TSC455	анти-CD37 x TSC394 F87Y
TSC456	анти-CD37 x TSC394 E86D F87Y

Таблица 11. Стабильность биспецифических конструкций

Анти-CD3 конструкции	Описание анти-CD37 X анти-CD3 биспецифических молекул	Tm 1
CAS105	анти-CD37 x DRA222	53,04
TSC445	анти-CD37 x TSC394	55,45
TSC452	анти-CD37 x (TSC394VL+ DRA222 VH)	55,37
TSC453	анти-CD37 x (TSC394VH + DRA222 VL)	56,54
TSC454	анти-CD37 x TSC394 E86D	57,94
TSC455	анти-CD37 x TSC394 F87Y	56,73
TSC456	анти-CD37x TSC394 E86D F87Y	55,45

Пример 2. Влияние улучшенной термостабильности на стабильность при хранении.

В принципе, белки с улучшенной термодинамической стабильностью также должны быть более устойчивыми к агрегации после хранения и должны иметь повышенную стабильность при хранении по сравнению с менее стабильными белками. Чтобы определить, коррелирует или нет повышение, наблюдаемое для Tm, с улучшением стабильности при хранении, белки, приведенные в табл. 10, оценивали в отношении стабильности при хранении в ФСБ при 25°C в течение двух недель. В каждом белке проводили замену буфера на ФСБ, используя препаративную эксклюзионную хроматографию, а концентрацию белка доводили до 1 мг/мл. Для каждого предназначенного для оценки белка готовили четыре флакона, содержащие каждый приблизительно 120 мкл. Использовали по одному флакону в каждый момент времени оценки стабильности. Чистоту определяли, анализируя 25 мкл (или 25 мкг) на колонке для аналитической эксклюзионной ВЭЖХ, уравновешенной в ФСБ, и измеряя поглощение на 280 нм. Для каждой конструкции в каждый момент времени проводили по три повторных ввода. После завершения процедуры ЭХ хроматограмму интегрировали, используя программное обеспечение Agilent ChemStation. Процент чистоты каждого белка рассчитывали, деля площадь пика для интактной молекулы на общую площадь пика, а затем умножая на 100.

(Площадь пика для интактной молекулы) / (общая площадь пика) × 100 =% чистоты

Представленная чистота является усредненной по значениям, полученным по трем вводам из одного флакона. Чистоту, как правило, определяли при T=0, 3, 7 и 14 суток. Значения чистоты наносили на график в виде функции от времени и проводили линейный регрессионный анализ. Наклон линии регрессии представлял скорость снижения чистоты для каждого белка, скорость снижения чистоты использовали для оценки числа суток хранения, которые приводили к 2% снижению в чистоте. Стабильность разных вариантов сравнивали, упорядочивая их от наибольшего к наименьшему числу суток, приводящих, согласно оценке, к 2% снижению. Чтобы уменьшить межаналитическую вариабельность, не проводили сравнение значений стабильности при хранении для разных экспериментов, ранжирование проводили только для конструкций в рамках одной экспериментальной группы.

Все новые молекулы демонстрировали превосходящую стабильность в растворе в ФСБ при 25°C по сравнению с CAS105 (фиг. 11). Также для каждой конструкции рассчитывали время образования агрегатов (табл. 12).

Таблица 12. Относительная стабильность при хранении при 25°C

Анти-CD3 конструкция	Описание анти-CD37 X анти- CD3 биспецифических молекул	# дней до 2 % снижения
CAS105	Анти-CD37 x DRA222	4
TSC445	Анти-CD37 x TSC394	8
TSC450	Анти-CD37 x TSC313	12
TSC451	Анти-CD37 x TSC316	12
TSC452	Анти-CD37 x (TSC394VL+H4)	7
TSC453	Анти-CD37 x (TSC394VH+L1)	8
TSC454	Анти-CD37 x TSC394 E462D	7
TSC455	Анти-CD37 x TSC394 F463Y	10
TSC456	Анти-CD37 x TSC394 DY	10

Эти данные показывают, что почти все конструкции имели двукратное или большее повышение в стабильности при хранении при 25°C по сравнению с конструкцией, содержащей оригинальный анти-CD3 scFv (DRA222).

Пример 3. Влияние улучшенной термостабильности на сывороточную стабильность.

Аналогично со стабильностью при хранении молекулы с более высокой термодинамической стабильностью также часто более устойчивы к протеолизу, что может улучшить стабильность в человеческой сыворотке. Это, в свою очередь, может улучшить общую сывороточную фармакокинетику и общее воздействие терапевтического средства.

Чтобы исследовать, повлияло ли улучшение термодинамической стабильности на общую сывороточную стабильность, одну из стабилизированных анти-CD3 scFv молекул (TSC394 F463Y) оценивали в отношении сывороточной стабильности в контексте анти-ROR1 x анти-CD3 биспецифической молекулы (ROR193). Также одновременно оценивали сходную биспецифическую молекулу, которая содержала оригинальный анти-CD3 scFv, DRA222 (ROR133). Родительское кроличье анти-ROR1 антитело R11, используемое для создания ROR1-связывающих доменов, описано, например, в публикации заявки на патент США № 2013/0251642 и Yang et al., PLoS ONE 6(6): e21018 (2011). Человеческую сыворотку, полученную от случайного здорового донора, собирали в Red/Grey Vacutanor (BD# 367988) и готовили в соответствии с предложенным поставщиком протоколом. Исследуемые препараты вносили в 50 мкл сыворотки в концентрации 1 мкМ в стерильных пробирках для ПЦР и инкубировали во влажном инкубаторе для тканевого культивирования при 37°C в течение до 21 суток. Выбранные моменты времени составляли 21, 14, 7, 3 и 0 сутки. Образцы инкубировали в обратном хронологическом порядке, начиная с "21 суток проведения анализа", и при этом оценку всех образцов проводили одновременно, используя анализ ПТКЦ на основе высвобождения хрома в конце инкубации на "0 суток проведения эксперимента", следуя протоколу, приведенному выше в примере 1. Значения EC₅₀ аппроксимировали с кривых титрования, которое проводили для образцов для каждого момента времени, и нормализовали относительно значения EC₅₀, определенного для каждой конструкции на 0 сутки.

Построенные графики зависимости значений EC₅₀ от времени показали огромную разницу для наблюдаемой сывороточной стабильности ROR133 по сравнению ROR193 (фиг. 12) с 2,5-кратным снижением наблюдаемой EC₅₀ в течение 21 суток для ROR133, но минимальным изменением EC₅₀ для ROR193. Это демонстрирует, что умеренное изменение термодинамической стабильности может иметь заметное влияние на сывороточную стабильность.

Пример 4. Влияние улучшенной термодинамической стабильности на экспрессию и качество белка.

Ранее также было показано, что улучшение термодинамической стабильности может приводить к улучшению экспрессии белка и общего качества белка согласно результатам определения образования высокомолекулярных агрегатов во время получения белка.

Чтобы исследовать, привела или нет улучшенная термодинамическая стабильность новых анти-CD3 scFv областей к улучшению экспрессии белка или качества белка, один из анти-CD3 доменов (TSC394DY) сравнивали с DRA222 в контексте пяти разных пар анти-ROR1 x анти-CD3 биспецифических молекул, каждая из которых содержала одинаковый анти-ROR1 scFv (табл. 13).

Таблица 13. Относительная экспрессия и качество белка

Пара СД	ID конструкции	CD3- связывающи й домен	Экспресси я (мкг/мл)	% улучшения	ЭХ (пост- проА)	% ВМ агрегатов	% снижени я
							агрегатов
A	ROR134	DRA222	26		78	22	
	ROR189	TSC394DY	37	42 %	89	11	50%
B	ROR154	DRA222	16		91	9	
	ROR185	TSC394DY	26	63%	94	6	33%
C	ROR179	DRA222	14		83	17	
	ROR186	TSC394DY	27	93%	88	12	29%
D	ROR181	DRA222	25		81	19	
	ROR191	TSC394DY	33	32%	90	10	47%
E	ROR182	DRA222	16		90	10	
	ROR192	TSC394DY	21	31%	92	8	20%

Для каждой пары молекул наблюдали более высокий титр общей экспрессии белка - на от 31% до 93% более высокий - в случае конструкции, содержащей стабилизированный анти-CD3 scFv (TSC394DY). Также, в рамках каждой пары молекул, конструкция, содержащая стабилизированный анти-CD3 scFv имела более низкий уровень высокомолекулярных агрегатов после очистки с протеином А (приблизительно от 20 до 50% снижения уровней агрегатов). Это подтверждает, что включение стабилизированного анти-CD3 scFv может привести к улучшению экспрессии белка и улучшению качества белка по сравнению с оригинальным анти-CD3 scFv.

Пример 5. Влияние стабилизированных анти-CD3 связывающих доменов на стабильность и фармакокинетику анти-PSMA X анти-CD3 связывающих молекул.

Чтобы исследовать влияние стабилизированного анти-CD3 scFv на стабильность и фармакокинетику биспецифической связывающей молекулы, PSMA-связывающий домен TSC266 (анти-PSMA X анти-CD3 биспецифическая молекула, содержащая DRA222 CD3-связывающий домен) переносили в биспецифическую молекулу, используя TSC456 анти-CD3 scFv. Эту новую биспецифическую молекулу назвали TSC471. Мышей BALB/c внутривенно дозировали TSC266 и TSC471 приблизительно при 10 мг/кг. TSC266 разводили в ФСБ, тогда как TSC471 разводили в буфере для состава, который использовали для всех разведений (5 мМ сукцинат, 6,5% сахарозы, 0,02% Твин 80, pH 4,8). Сыворотку получали от 3 животных для 10 моментов времени (всего n = 30). Моменты времени соответствовали 15 мин и 2, 6, 24, 48, 72, 96, 168, 336, и 504 ч после введения биспецифических молекул. Терминальный забор крови использовали, чтобы собрать больший объем. Сывороточные концентрации определяли, используя методы ELISA с захватом анти-PSMA связывающего домена и выявлением анти-CD3 связывающего домена. Сывороточные концентрации в динамике по времени использовали для определения оценочных фармакокинетических (ФК) параметров с помощью некомпартментного анализа (НКА) и компартментного анализа. Образцы сыворотки для поздних моментов времени также исследовали в отношении антител к лекарственному препарату, используя стандартный метод ELISA с образованием мостиков с соответствующими биспецифическими молекулами +/- биотин. Если говорить конкретнее, применяли следующие методы ELISA. Концентрации анти-PSMA X анти-CD3 биспецифических молекул определяли, используя 96-луночные планшеты, покрытые мышинным моноклональным антителом (mAb 1H5) для захвата анти-PSMA части каждой конструкции. Другие концы конструкций выявляли, используя конъюгированное с биотином мышинное моноклональное антитело, нацеленное на анти-CD3-связывающий домен (mAb 5H5), таким образом с помощью этого метода ELISA можно определять только интактный белок. Для количественной оценки связанных иммунных комплексов из образцов сыворотки и аналитических контрольных образцов использовали полимеризованную пероксидазу хрена (поли-ПХ) и флуорогенный субстрат пероксидазы, а результаты получали с помощью флуоресцентного планшет-ридера. Стандартные кривые, используемые для расчета сывороточных концентраций, состояли из различных известных концентраций соответствующей биспецифической конструкции PSMA, внесенной в разбавитель ELISA. Программное обеспечение SOFTMAX® Pro использовали для расчета сывороточных концентраций с использованием 4-параметрического логистического уравнения, а также точности и достоверности для стандартных и исследуемых образцов.

Результаты этих исследований приведены на фиг. 14 и 15. Согласно данным некомпартментного анализа (НКА), выполненного с помощью программного обеспечения Phoenix-64 WinNonLin, TSC471 имел приблизительно 2-кратное улучшение времени полужизни, наряду с 3-4-кратным снижением параметра выведения по сравнению с TSC266. Fc TSC471 сохранял функциональные характеристики TSC266

(отсутствие активности АЗКЦ или КЗЦ, эквивалентное связывание FcRn) с улучшением стабильности. Fc TSC471 содержит улучшенную в отношении стабильности версию CH2-домена. Мутации аналогичны мутациям в "234-236" области молекулы в Fc TSC266, но Fc TSC471 содержит меньшее число мутаций в области CDC, сохраняя только мутацию K322A, вместо всех трех в нулевом Fc CH2. Анти-CD3 scFv TSC471 сохранял связывание и активность в отношении Т-клеток человека и яванского макака. Линкер, используемый в TSC471, имел повышенную устойчивость к протеазам CHO и другим РТМ и не содержал участок N-связанного гликозилирования.

Пример 6. Влияние стабилизированных анти-CD3 связывающих доменов на фармакокинетику анти-ROR1 X анти-CD3 связывающих молекул.

Проводили сравнение фармакокинетики анти-ROR1 x анти-CD3 биспецифических молекул, содержащих менее стабильный DRA222 CD3 связывающий домен или более стабильный TSC456 CD3 связывающий домен. Оценивали следующие конструкции. Последовательности конструкций приведены в табл. 14.

Таблица 14

Конструкция	Анти-ROR1	Анти-CD3
ROR206 (Линия CHO: ROR206a)	Связывающий домен А	DRA222
ROR207 (Линия CHO: ROR207a)	Связывающий домен А	TSC456
ROR208 (Линия CHO: ROR208a)	Связывающий домен В	DRA222
ROR209 (Линия CHO: ROR209a)	Связывающий домен В	TSC456

Мышей NSG внутривенно дозировали анти-ROR1 X анти-CD3 биспецифическими антителами приблизительно при 10 мг/кг. Все биспецифические антитела разводили в ФСБ. Сыворотку получали от 3 животных для 10 моментов времени (n = 30 для каждой конструкции) после введения, а также в один момент времени перед дозированием. Моменты времени соответствовали 15 мин и 2, 6, 24, 48, 72, 96, 168, 336, и 504 ч после введения биспецифических молекул. Терминальный забор крови использовали, чтобы собрать больший объем. Сывороточные концентрации определяли методами ELISA для выявления интактной молекулы. Сывороточные концентрации в динамике по времени использовали для определения оценочных ФК-параметров с помощью некомпартментного анализа (НКА) и компартментного анализа.

Если говорить конкретнее, применяли следующие методы ELISA. Концентрации анти-ROR1 X анти-CD3 биспецифических молекул определяли, используя 96-луночные планшеты, покрытые ROR1 ECD-AFH (ROR177) для захвата анти-ROR1 части каждой конструкции. Другие концы конструкций ROR выявляли, используя конъюгированное с биотином мышинное моноклональное антитело, нацеленное на анти-CD3-связывающий домен (mAb 5H5), таким образом, с помощью этого метода ELISA можно определять только интактный белок. Для количественной оценки связанных иммунных комплексов из образцов сыворотки и аналитических контрольных образцов использовали полимеризованную пероксидазу хрена (поли-ПХ) и флуорогенный субстрат пероксидазы, а результаты получали с помощью флуоресцентного планшет-ридера. Стандартные кривые, используемые для расчета сывороточных концентраций, состояли из различных известных концентраций соответствующей биспецифической конструкции ROR, внесенной в разбавитель ELISA. Программное обеспечение SOFTMAX® Pro использовали для расчета сывороточных концентраций с использованием 4-параметрического логистического уравнения, а также точности и достоверности для стандартных и исследуемых образцов.

Результаты этих исследований приведены на фиг. 16, 17А и 17В. Согласно данным НКА и компартментного анализа ROR209a имел наибольшее время полужизни. ROR207a характеризовался самым низким выведением и оценочным объемом по данным обоих видов анализа. Обе анти-ROR1 биспецифические молекулы с DRA222 CD3 связывающим доменом имели более короткое время полужизни и более быстрые параметры выведения. Стоит отметить, что конструкции с улучшенным анти-CD3 связывающим доменом (TSC456) имели лучшую фармакокинетику, чем конструкции с менее стабильным анти-CD3 связывающим доменом (DRA222).

Пример 7. Влияние стабилизированных анти-CD3 связывающих доменов на In Vivo эффективность анти-ROR1 X анти-CD3 связывающих молекул.

Клетки MDA-MB-231 смешивали вместе с донорскими Т-клетками и матригелем и имплантировали в бок мышей NOD/SCID на 0 сутки исследования. Каждая группа содержала N = 5 животных с Т-клетками от одного донора. На фиг. 18 показан типовой график, который демонстрирует минимальное влияние Т-клеток на рост опухоли со стороны донорских Т-клеток. Животных обрабатывали ФСБ или 30 мкг или 3 мкг ROR208 (анти-CD3 связывающий домен DRA222) или ROR209 (анти-CD3 связывающий

домен TSC456). Дозу вводили на 0, 4 и 8 сутки. Рост опухоли измеряли калиперами на протяжении исследования.

Существенное ингибирование роста опухоли наблюдали после обработки обеими биспецифическими молекулами ROR. Не наблюдали никакой существенной разницы в росте опухоли при применении Т-клеток от донора (фиг. 18) по сравнению с опухолью без обработки. Не наблюдалось существенной разницы между животными, обработанными ROR208, по сравнению с обработанными ROR209 при любом уровне дозирования, что свидетельствует о том, что анти-CD3 связывающий домен с улучшенной стабильностью имел такую же эффективность, что и нестабильный анти-CD3 связывающий домен. Пример 8. Влияние стабилизированных анти-CD3 связывающих доменов на In Vivo эффективность анти-ROR1 X анти-CD3 связывающих молекул. Клетки Kasumi-2 смешивали вместе с донорскими Т-клетками и матригелем и имплантировали в бок мышей NOD/SCID на 0 сутки исследования. Каждая группа содержала N = 10 животных с Т-клетками от одного донора. Животных обрабатывали ФСБ или 30, 3 или 0,3 мкг ROR243 (анти-CD3 связывающий домен TSC456), как показано на фиг. 19. Дозу вводили на 0, 4 и 8 сутки. Способом введения был внутривенный (В/В) за исключением одной группы, в которой дозу вводили подкожно (П/К). На фиг. 19 показаны результаты анализа. Рост опухоли измеряли калиперами на протяжении исследования.

Ингибирование роста опухоли не наблюдали в присутствии Т-клеток в отсутствие ROR243 или с обработкой ROR243 в отсутствие Т-клеток. Существенное ингибирование роста опухоли наблюдали при применении дозы 0,3 мкг с дозозависимым титрованием.

Разницу между путями введения не наблюдали.

Таблица 14. Последовательности и компоненты связывающего домена и полипептида
Последовательность ДНК для Fc DRA222 (TSC311 или TSC312):

atggaagcac cagcgcagct tctcttcttc ctgctactct ggtccccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttctt cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccg	180
acccctgagg tcacatgctt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgaccaggga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgctgctgc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaaaggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaaa gaccacgcct	600
cccgctctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttcctgaat	780
acaggaactc agatggcagc tcattctccg aattctcagg tccagctggg ggagtctggg	840
ggcggagtgg tgcagcctgg gcggtcactg aggctgtcct gcaaggcttc tggctacacc	900
ttactagat ctacgatgca ctgggtaagg caggccctcg gacaaggctt ggaatggatt	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaatcaa ggacaggttc	1020
acaatcagcg cagacaaatc caagagcaca gccttcctgc agatggacag cctgaggccc	1080
gaggacaccg gcgtctatct ctgtgcacgg cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactqgg qccaaqqgac tcccgtcact qtctctagcg qtgqcgqagq qtctqggqgt	1200
ggcggatccg gaggtgggtg ctctgcacaa gacatccaga tgaccagtc tccaagcagc	1260
ctgtctgcaa gcgtggggga cagggtcacc atgacctgca gtgccagctc aagtgttaag	1320
tacatgaact ggtaccagca gaagccgggc aaggccccca aaagatggat ttatgactca	1380
tccaaactgg cttctggagt ccctgctcgc ttcagtggca gtgggtctgg gaccgactat	1440
accctcaca tccagcagct gcagcccgaa gatttcgcca cttattactg ccagcagtg	1500
agtcgtaacc caccacggtt cggagggggg accaagctac aaattacatc ctccagctaa	1560

(SEQ ID NO:1)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60. Fc-область представлена остатками 61–753. Линкер представлен остатками от 754 до 816. Анти-CD3 scFv представлен остатками от 817 до 1560.

Последовательность зрелого белка для Fc DRA222 (TSC311 или TSC312)

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKQTP	180
PVLDSVDSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTQKSLSLSP GQRHNNSSLN	240
TGTQVAGHSP NSQVQLVESG GGVVQVGRSL RLSCKASGYT FTRSTMHWVR QAPGGLEWI	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRF TISADKSKST AFLQMSLRP EDTGVYFCAR PQVHYDNGF	360
PYWGQTPVPT VSSGGGGSGG GSGGGGSAQ DIQMTQSPSS LSASVGRVIT MTCASSSVS	420

YMNWYQQKPG KAPKRWIYDS SKLASGVPAR FSGSGSGTDY TLTISLQPE DFATYYCQQW 480
 SRNPPTFGGG TKLQITSSS 499

(SEQ ID NO:2)**Последовательность ДНК для Fc H7L1 (TSC313):**

atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60
 gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg 120
 ggtgcaccgt cagtcttctc cttccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccg 180
 accctcgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 240
 aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag 300
 tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgaccaggga ctggctgaat 360
 ggcaaggcat acgctgctgc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 420
 atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 480
 gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc 540
 gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccaagcct 600
 cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcacctg ggacaagagc 660
 aggtggcagc aggggaacct cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 720
 tacacgcaga agagcctctc cctgtctcgg ggtcagaggc acaacaattc ttccctgaat 780
 acaggaactc agatggcagg tcattctcgg aattctcagg tgacagctgt gcagtctggg 840
 gctgaggtga agaagcctgg ggcctcagtg aaggtctcct gcaaggcttc tggatacacc 900
 ttcaccagat ctacgatgca ctgggtgcga caggccccctg gacaagggct tgagtggatg 960
 ggatacatca atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagggtc 1020
 accatgacca gggacacgtc catcagcaca gcctacatgg agctgagcag gctgagatct 1080
 gacgacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt 1140
 ccttactggg gccaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcgga 1200
 ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctct 1260
 ccaagcagcc tgtctgcaag cgtgggggac agggtcacca tgacctcag tgccagctca 1320
 agtgtaagt acatgaactg gtaccagcag aagccgggca agcccccaa aagatggatt 1380
 tatgactcat ccaaactggc ttctggagtc cctgctcgtc tcagtggcag tgggtctggg 1440
 accgactata cctcacaat cagcagcctg cagcccgaag atttcgccac ttattactgc 1500
 cagcagtgga gtcgtaaccc acccagcttc ggagggggga ccaagctaca aattacatcc 1560
 tccagctaa 1569

(SEQ ID NO:3)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60. Fc-область представлена остатками 61-753. Линкер представлен остатками от 754 до 816. Анти-CD3 scFv представлен остатками от 817 до 1569.

Последовательность зрелого белка для Fc H7L1 (TSC313):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF 60
 NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT 120
 ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTP 180
 PVLDSDGSEFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTKSLSLSLP GQRHNNSSLN 240
 TGTQMAHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGASV KVSCKASGYT FTRSTMHWVR QAPGQGLEWM 300
 GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TMRDTSIST AYMELSLRLS DDTAVYYCAR PQVHYDYNGF 360

PYWGQGLVLT	VSSGGGGSGG	GGSGGGSGG	GGSDIQMTQS	PSSLASVGD	RVTMTCSASS	420
SVSYMNWYQQ	KPGKAPKRWI	YDSSKLAGSV	PARFSGSGSG	TDYTLTISSL	QPEDFATYYC	480
QQWSRNPPTF	GGGTLQITS	SS				502

(SEQ ID NO:4)**Последовательность ДНК для Fc H7L4 (TSC314):**

atggaagcac	cagcgcagct	tctcttcctc	ctgctaactct	ggctcccaga	taccaccggt	60
gagcccaaat	cttctgacaa	aactcacaca	tgcccaccgt	gcccagcacc	tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt	cagtcttcct	cttcccccca	aaacccaagg	acaccctcat	gatctcccgg	180
accctcgagg	tcacatgcgt	ggtggtggac	gtgagccacg	aagaccctga	ggtcaagttc	240
aactggtacg	tggacggcgt	ggaggtgcat	aatgccaaga	caaagccgcg	ggaggagcag	300
tacaacagca	cgtaccgtgt	ggtcagcgtc	ctcaccgtcc	tgcaccagga	ctggctgaat	360
ggcaaggcat	acgcgtgctc	ggtctccaac	aaagccctcc	cagcccccac	cgagaaaacc	420
atctccaaag	ccaaagggca	gccccgagaa	ccacaggtgt	acaccctgcc	cccatcccgg	480
gatgagctga	ccaagaacca	ggtcagcctg	acctgcctgg	tcaaaggctt	ctatccaagc	540
gacatgcgcg	tggagtggga	gagcaatggg	cagccggaga	acaactacaa	gaccacgctc	600
cccgtgctgg	actccgacgg	ctccttcttc	ctctacagca	agctcaccgt	ggacaagagc	660
aggtggcagc	aggggaacgt	cttctcatgc	tccgtgatgc	atgaggctct	gcacaaccac	720
tacacgcaga	agagcctctc	cctgtctccg	ggtcagaggc	acaacaattc	ttccctgaat	780
acaggaactc	agatggcagg	tcattctccg	aattctcagg	tgacgtggtg	gcagctctggg	840
gctgaggtga	agaagcctgg	ggcctcagtg	aaggtctcct	gcaaggcttc	tggatacacc	900
ttcaccagat	ctacgatgca	ctgggtgcga	caggccctcg	gacaagggct	tgagtggatg	960
ggatacatta	atcctagcag	tgcttatact	aattacaatc	agaaattcaa	ggacagggtc	1020
accatgacca	gggacacgtc	catcagcaca	gcctacatgg	agctgagcag	gctgagatct	1080
gacgacacgg	ccgtgtatta	ctgtgcgaga	cccccaagtc	actatgatta	caacgggttt	1140
ccttactggg	gccaaggaac	cctggtcacc	gtctcctcag	gtggaggcgg	ttcaggcgga	1200
ggtggatccg	gcggtggcgg	atcgggtggc	ggcggatctg	aaattgtggt	gacacagtct	1260
ccagccaccc	tgtctttgtc	tccaggggaa	agagccaccc	tctcctgcag	tgccagctca	1320
agtgtaaagt	acatgaactg	gtaccaacag	aaacctggcc	aggctcccag	gctcctcctc	1380
tatgactcat	ccaaactggc	ttctggcctc	ccagccaggt	tcagtgccag	tgggtctggt	1440
acagacttca	ctctcaccat	cagcagccta	gagcctgaag	atcttgcagt	ttattactgt	1500
cagcagtgga	gtcgtaaccc	accacatttc	ggcggaggga	ccaaggtgga	gatcaaacgg	1560
tcctccagct	aa					1572

(SEQ ID NO:5)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H7L4 (TSC314):

EPKSSDKTHT	CPPCPAPEAA	GAPSVFLFPP	KPKDTLMISR	TPEVTCVVVD	VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH	NAKTKPREEQ	YNSTYRVVSV	LTVLHQDWLN	GKAYACAVSN	KALPAPIEKT	120
ISKAKQPRE	PQVYTLPPSR	DELTKNQVSL	TCLVKGFYPS	DIAVEWESNG	QFENNYKTFP	180
FVLDSGDFE	LYSKLTVDKS	RWQQGNVFSC	SVMHEALHNN	YTQKSLSLSP	GQRHNNSSLN	240
TGTQMAGHSP	NSQVQLVQSG	AEVKKPGASV	KVSKASGYT	FTRSTMHWVR	QAPGQGLEWM	300
GYINPSSAYT	NYNQKFKDRV	TMTRDTSIST	AYMELSLRLS	DDTAVYYCAR	PQVHYDYNGF	360
PYWGQGLVLT	VSSGGGGSGG	GGSGGGSGG	GGSEIVLTQS	PATLSLSPGE	RATLSCSASS	420
SVSYMNWYQQ	KPGQAPRLLI	YDSSKLAGSI	PARFSGSGSG	TDFTLTISSL	EPEDFAVYYC	480

QQWSRNPTTF GGGTKVEIKR SSS

503

(SEQ ID NO:6)**Последовательность ДНК для Fc H7L5 (TSC315):**

atggaagcac cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttctt cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg	180
acccttgagg tcacatgctg ggtgggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggagggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgctgctgc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaaa gaccacgctt	600
cccgtgctgg actccgacgg ctctcttctc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
agggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc tccctgaaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tgcagctggt gcagtctggg	840
gctgaggtga agaagcctgg ggcctcagtg aaggtctcct gcaaggcttc tggatacacc	900
ttcaccagat ctacgatgca ctgggtgcga caggcccctg gacaagggct tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgettatact aattacaatc agaaattcaa ggacagggtc	1020
accatgacca gggacacgtc catcagcaca gcctacatgg agctgagcag gctgagatct	1080
gacgacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctctcag gtggaggcgg ttcaggcggga	1200
ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctct	1260
ccatctctcc tgtctgcac tgtaggagac agagtcacca tcaactgcag tgccagctca	1320
agtgtaaagt acatgaactg gtatcagcag aaaccagga aagcccctaa gctcctgatc	1380
tatgactcat ccaaactggc ttctggggtc ccatcaagg tcaagtggcag tggatctggg	1440
acagatttca ctctcaccat cagcagctcg caacctgaag attttgcaac ttactactgt	1500
caacagtgga gtcgtaaccc acccacttcc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:7)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H7L5 (TSC315) :

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFPYS DIAVEWESNG QPENNYKTP	180
FVLDSDGSEF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTKSLSLSP GQRHNNSSLN	240
TGTQMAHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGASV KVSCKASGYT FTRSTMHWVR QAPGQGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TMRDTSIST AYMELSLRLS DDTAVYYCAR PQVHYDNGF	360
PYWGQGTLLV VSSGGGSGG GSGGGGSGG GSDIQMTQS PSSLASVGD RVTITCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKLLI YDSSKLAGSV PSRFSGSGSG TDFTLTISSL QPEDFATYYC	480
QQWSRNPTTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:8)**Последовательность ДНК для Fc H8L1 (TSC316):**

atggaagcac	cagcgcagct	tctcttctctc	ctgctactct	ggctcccaga	taccaccggt	60
gagcccaaat	cttctgacaa	aactcacaca	tgcccaccgt	gcccagcacc	tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt	cagtcttctc	cttcccccca	aaaccaag	acaccctcat	gatctcccgg	180
accctgagg	tcacatgct	ggtggtggac	gtgagccacg	aagaccctga	ggtcaagttc	240
aactggtagc	tgacggcgt	ggaggtgcat	aatgccaaga	caaagccgcg	ggaggagcag	300
tacaacagca	cgtaccgtgt	ggtcagcgtc	ctcaccgtcc	tgaccaggga	ctggctgaat	360
ggcaaggcat	acgctgtgcg	ggtctccaac	aaagccctcc	cagcccccat	cgagaaaacc	420
atctccaaag	ccaaagggca	gccccgagaa	ccacaggtgt	acaccctgcc	cccatcccgg	480
gatgagctga	ccaagaacca	ggtcagcctg	acctgctctg	tcaaaggctt	ctatccaagc	540
gacatcgccg	tgagtgagg	gagcaatggg	cagccggaga	acaactacaa	gaccacgcct	600
cccgtgctgg	actccgacgg	ctccttcttc	ctctacagca	agctcaccgt	ggacaagagc	660
aggtggcagc	aggggaacgt	cttctcatgc	tccgtgatgc	atgaggctct	gcacaaccac	720
tacacgcaga	agagcctctc	cctgtctccg	ggtcagaggc	acaacaatc	ttccctgaat	780
acaggaactc	agatggcagg	tcattctccg	aattctcagg	tgacgtggt	gcagtctggg	840
gctgagggtga	agaagcctgg	ggcctcagtg	aaggtttcct	gcaaggcatc	tgatacacc	900
ttcaccagat	ctacgatgca	ctgggtgcca	cagggcccctg	gacaagggtc	tgagtggatg	960
ggatacatta	atcctagcag	tgcttatact	aattacaatc	agaaattcaa	ggacagagtc	1020
accatgacca	gggacacgtc	cacgagcaca	gtctacatgg	agctgagcag	cctgagatct	1080
gaggacacgg	ccgtgtatta	ctgtgctaga	ccccagtc	actatgatta	caacgggttt	1140
ccttactggg	gccaaggaac	cctggtcacc	gtctcctcag	gtggaggcgg	ttcaggcgga	1200
ggtggatccg	gcggtggcgg	atcggtggc	ggcggatctg	acatccagat	gaccagctct	1260
ccaagcagcc	tgtctgcaag	cgtgggggac	agggtcacca	tgacctgag	tgccagctca	1320
agtgtaatgt	acatgaactg	gtaccagcag	aagccgggca	aggccccaa	aagatggatt	1380
tatgactcat	ccaaactggc	ttctggagtc	cctgctcgct	tcagtggcag	tggtctggg	1440
accgactata	ccctcacaat	cagcagcctg	cagcccgaag	atttcgccac	ttattactgc	1500
cagcagtgga	gtcgtaacct	accacgctc	ggagggggga	ccaagctaca	aattacatcc	1560
tccagctaa						1569

(SEQ ID NO:9)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H8L1 (TSC316) :

EPKSSDKTHT	CPFPAPEAA	GAPSVFLFPP	KPKDTLMISR	TPEVTCVVVD	VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH	NAKTKPREEQ	YNSTYRVVSV	LTVLHQDWLN	GKAYACAVSN	KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE	PQVYTLPPSR	DELTKNQVSL	TCLVKGFYPS	DIAVEWESNG	QPENNYKTP	180
PVLDSDGSFF	LYSKLTVDKS	RWQQGNVFSC	SVMHEALHNS	YTQKSLSLSP	GQRHNNSSLN	240
TGTQMAGHSP	NSQVQLVQSG	AEVKKPGASV	KVSKASGYT	FTRSTMHWVR	QAPGQGLEWM	300
GYINPSSAYT	NYNQKFKDRV	TMTRDTSTST	VYMESSSLRS	EDTAVYYCAR	PQVHYDNGF	360
PYWGQGTIVT	VSSGGGSGG	GGGGGGSGG	GGSDIQMTQS	PSSLSASVGD	RVTMTCASAS	420
SVSYMNWYQQ	KPKKAPKRWI	YDSSKLAGSV	PARFSGSGSG	TDYTLTISSL	QPEDFATYYC	480
QQWSRNPPTF	GGTKLQITS	SS				502

(SEQ ID NO:10)

Последовательность ДНК для Fc H8L4 (TSC317):

atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gccccagacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg	180
accctgagg tcacatgctt ggtgggtggac gtgagccacg aagaccctga ggccaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggagggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcgtgctc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatccccg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccacgct	600
cccgtgctgg actccgacg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
agtggtgagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttccctgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tgcagctggt gcagctgagg	840
gctgaggatga agaagcctgg gccctcagtg aaggtttctc gcaaggcatc tggatacacc	900
ttaccagat ctacgatgca ctgggtgcga caggccccctg gacaaggctt tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
accatgacca gggacacgct cagcagcaca gtctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgctaga ccccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctctcag gtggaggcgg ttcaggcggg	1200
ggtggatccg gcgggtggcg atcgggtggc ggcgatctg aaattgtgtt gacacagtct	1260
ccagccacc tgtctttgtc tccaggggaa agagccacc tctcctgcag tggcagctca	1320
agtgtaatgt acatgaactg gtaccaacag aaacctggcc aggtccccag gctcctcatc	1380
tatgactcat ccaaactggc ttctggcctc ccagccaggt tcagtggcag tgggtctggg	1440
acagacttca ctctcaccat cagcagccta gagcctgaag attttgagc ttattactgt	1500
cagcagtgga gtcgtaacc acccactttc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:11)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H8L4 (TSC317):

EPKSSDKTHT CFPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTRPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTF	180
PVLDSGDSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNS YTKSLSLSLP GQRHNSSLN	240
TGTQMGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGASV KVSCKASGYT FTRSTMHWVR QAPGGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TMRDTSST VYMESSSLRS EDTAVYYCAR PQVHYDINGF	360
PYWGQGLTIVT VSSGGGSGG GSGGGGSGG GGSEIVLTQS PATLSLSPGE RATLSCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGQAPRLLI YDSSKLAGSI PARFSGSGSG TDFTLTISSL EPEDFAVYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:12)

Последовательность ДНК для Fc H8L5 (TSC318):

atggaagcac cagcgcagct tctcttctct ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgaccctg cagtcttctt cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg	180
accctgagg tcacatgctg ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcgtgctc ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaagggca gccccagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaaa gaccacgctt	600
cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacaagcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttcctgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tgcagctggt gcagtctggg	840
gctgaggtga agaagcctgg gcctcagtg aaggttctc gcaaggcatc tggatacacc	900
ttcaccagat ctacgatgca ctgggtgcca caggcccctg gacaagggtc tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgccttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
accatgacca gggacacgtc cagcagcaca gctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgctaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcggg	1200
ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctt	1260
ccatcctccc tgtctgcata ttaggagac agagtcacca tcacttgagc tgccagctca	1320
agtgtaagtt acatgaactg gtatcagcag aaaccagga aagcccctaa gctcctgatc	1380
tatgactcat ccaaactggc ttctggggtc ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg	1440
acagatttca ctctcaccat cagcagctct caacctgaag attttgcaac ttactactgt	1500
caacagtgga gtcgtaacc acccacttct ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:13)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H8L5 (TSC318):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTFP	180
PVLDSGSEFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFC SVMHEALNH YTQKSLSLSP GQRHNNSLNL	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGASV KVSCKASGYT FTRSTMHWVR QAPGGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TMTRDTSTST VYMESSLRS EDTAVYYCAR PQVHYDNGF	360
PYWGQGLVLT VSSGGGSGG GSGGGGSGG GSDIQMTQS PSSLASVGD RVTITCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKLLI YDSSKLASGV PSRFSGSGSG TDFTLTISL QPEDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:14)

Последовательность ДНК для Fc H9L1 (TSC319):

atggaagcac cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttctt cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccg	180
accctgaggt tcacatgctt ggtgggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagcccg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctaccctcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgctgctgc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaaaggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatccccg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct	600
cccgctgctg actccgacgg ctcttctctt ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacct cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttccctgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tccagcttgt gcagctctgg	840
gctgaggtga agaagcctgg ggctcagtg aaggtttctt gcaaggcttc tggctacacc	900
tttactagat ctacgatgca ttgggtgctc cagcccccg gacaaaggct tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagggctc	1020
accattacca gggacacatc cgcgagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaagacacgg ctgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
cottactggg gccaaagaa cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcggga	1200
ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctct	1260
ccaagcagcc tgtctgcaag cgtgggggac agggtcacca tgacctgcag tggcagctca	1320
agtgtaagtt acatgaactg gtaccagcag aagccgggca agggcccca aagatggatt	1380
tatgactcat ccaaaactgg ttctggagtc cctgctcgtc tcagtggcag tgggtctggg	1440
accgactata cctcacaat cagcagcctg cagcccgaag atttcgccac ttattactgc	1500
cagcagtgga gtcgtaacc acccacgttc ggagggggga ccaagctaca aattacatcc	1560
tccagctaa	1596

(SEQ ID NO:15)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H9L1 (TSC319):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDNLN GKAYACAVSN KALPAIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTP	180
PVLDSGSGFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFC SVMHEALHNN YTKSLSLSP GQRHNSSLN	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG AEVKKGASV KVSCKASGYT FTRSTMHWVR QAPGQRLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITRDTAST AYMELSSLR EDYAVYYCAR PQVHYDNGF	360
PYWGQGLVLT VSSGGGGSGG GSGGGGGSGG GSDIQMTQS PSSLASVGD RVTMTCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLAGV PARFSGSGG TDYTLTISSL QPEDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKLQITS SS	502

(SEQ ID NO:16)

Последовательность ДНК для Fc H9L4 (TSC320):

atggaagcac cagcgcagct tctcttctctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttctc cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg	180
acccctgagg tcacatgctg ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcgtgctc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaag ccaagggca gcccagagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgectgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct	600
cccgctctgg actccgacgg ctcttctctc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacct cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagagge acaacaattc ttccttgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tccagcttgt gcagtctggg	840
gctgaggtga agaagcctgg ggcctcagtg aaggttctc gcaaggcttc tggctacacc	900
tttactagat ctacgatgca ttgggtgctc caggcccccg gacaaaggct tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagggtc	1020
accattacca gggacacatc cgcgagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaagacacgg ctgtgtatta ctgtgctgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaagAAC cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcggg	1200
ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc gccggatctg aaattgtgtt gacacagtct	1260
ccagccacc tgtctttgtc tccaggggaa agagccacc tctcctgcag tgccagctca	1320
agtgtaaagt acatgaactg gtaccaacag aaacctggcc aggtctccag gctcctcctc	1380
tatgactcat ccaaactggc ttctggcatc ccagccaggt tcagtggcag tgggtctggg	1440
acagacttca ctctccatc cagcagccta gaccctgaag attttgagct ttattactgt	1500
cagcagtgga gtcgtaacc acccactttc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:17)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H9L4 (TSC320):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTFP	180
PVLDSGSGFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNS YTKSLSLSP GQRHNNSLN	240
TGTQMGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGASV KVSCKASGYT FTRSTMHWVR QAPGQRLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITRDTAST AYMESSLRS EDTAVYYCAR PQVHYDNGF	360
PYWGQGLVLT VSSGGGSGG GSGGGGSGG GGSEIVLTQS PATLSLSPGE RATLSCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGQAPRLLI YDSSKLAGSI PARFSGSGS TDFTLTISL EPEDFAVYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:18)

Последовательность ДНК для Fc H9L5 (TSC321):

atggaagcac cagcgagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttctt cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccg	180
acccttgagg tcacatgctt ggtgggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgctgctgc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccatt cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaaaggca gccccgagaa cacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct	600
cccgtgctgg actccgacgg ctcttctctc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggtctt gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttccttgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tccagcttgt gcagctctggg	840
gctgaggtga agaagcctgg gccctcagtg aaggtttcct gcaaggcttc tggctacacc	900
tttactagat ctacgatgca ttgggtgctc cagccccccg gacaaaggct tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagggtc	1020
accattacca gggacacatc cgcgagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaagacacgg ctgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcgga	1200
ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc gccggatctg acatccagat gaccagctct	1260
ccatctccc tgtctgcatc ttagtagagc agagtcacca tcaactgcag tgcagctca	1320
agtgtgaagt acatgaactg gtatcagcag aaaccagga aagcccctaa gctcctgatc	1380
tatgactcat ccaactggc ttctggggtc ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg	1440
acagatttca ctctcaccat cagcagctc caacctgaag attttgcaac ttactactgt	1500
caacagtgga gtcgtaacc acccacttcc gccggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:19)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H9L5 (TSC321):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKQPRE PQVYTLFPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTFP	180
PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTKSLSLSP GQRHNNSSLN	240
TGTQMGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGASV KVSCKASGYT FTRSTMHWVR QAPGQRLWWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITRDTAST AYMESSLRS EDTAVYYCAR PQVHYDYNGF	360
PYWGQGLVLT VSSGGGSGG GSGGGGSGG GSDIQMTQS PSSLASVGD RVTITCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKLLI YDSSKLAGSV PSRFSGSGSG TDFLTISL QPEDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:20)**Последовательность ДНК для Fc H10L1 (TSC322):**

042409

atggaagcac cagcgagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttctt cttccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg	180
accctgagg tcacatgctt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgctgctgc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaaa gaccacgctt	600
cccgtgctgg actccgacgg ctctcttctt ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
agggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttcctgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tccagctggt gcaatctggg	840
gctgagggtga agaagcctgg gtctctcggg aaggtctctt gcaaggcttc tggaggcacc	900
ttcagcagat ctacgatgca ctgggtgcga caggccccctg gacaaggctt tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
acgattaccg cggacaaatc cagcagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctctcag gtggaggcgg ttcaggcggg	1200
ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctct	1260
ccaagcagcc tgtctgcaag cgtgggggac agggtcacca tgacctgag tgccagctca	1320
agtgtaagtt acatgaactg gtaccagcag aagccgggca aggccccca aagatggatt	1380
tatgactcat ccaaactggc ttctggagtc cctgctcgtc tcagtggcag tgggtctggg	1440
accgactata cctcacaat cagcagcctg cagcccgaag atttcgccac ttattactgc	1500
cagcagtgga gtcgtaacc acccacgttc ggagggggga ccaagctaca aattacatcc	1560
tccagctaa	1569

(SEQ ID NO:21)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H10L1 (TSC322):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDNLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTFP	180
PVLDSDGSEF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTRKSLSLSP GQRHNNSLNL	240
TGTQMGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGSSV KVSCKASGGT FSRSTMHWVR QAPGGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITADKSTST AYMESSLRS EDTAVYYCAR PQVHYDINGF	360
PYWGQGTLLV VSSGGGSGG GSGGGGSGG GGSIDIQMTQS PSSLASVGD RVTMTCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLAGSV PARFSGSGS TDYTLTISSL QPEDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKLQITS SS	502

(SEQ ID NO:22)

Последовательность ДНК для Fc H10L4 (TSC323):

042409

atggaagcac cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcy	120
ggtgaccggt cagtcttctt cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg	180
accctgagg tcacatgctt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcy ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgctgtgcy ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaagggca gccccagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgctt	600
cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc tccctgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tccagctggt gcaatctggg	840
gctgagggtg agaagcctgg gtctctcggtg aaggtctctt gcaaggcttc tggaggcacc	900
ttcagcagat ctacgatgca ctgggtgcy cagggccctg gacaagggct tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
acgattaccg cggacaaatc cagcagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga ccccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcgga	1200
ggtygatccg gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg aaattgtgtt gacacagtct	1260
ccagccacc tgtctttgtc tccaggggaa agagccacc tctcctgag tgccagctca	1320
agtgtaagtt acatgaactg gtaccaacag aaacctggcc aggctcccag gctcctcatc	1380
tatgactcat ccaactggc ttctggcatc ccagccaggt tcagtggcag tgggtctggg	1440
acagacttea ctctcaccat cagcagccta gagcctgaag attttgagtt ttattactgt	1500
cagcagtgga gtcgtaacc acccactttc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:23)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H10L4 (TSC323):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTFP	180
FVLDSGSEFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTKSLSLSP GQRHNNSSLN	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGSSV KVSCKASGGT FSRSTMHWVR QAPGGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITADKSTST AYMELSSLRS EDTAVYYCAR PQVHYDNGF	360
PYWGQGTLLV VSSGGGSGG GSGGGGSGG GGSEIVLTQS PATLSLSPGE RATLSCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGQAPRLLI YDSSKLASGI PARFSGSGG TDFTLTISSL EPEDFAVYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:24)

Последовательность ДНК для Fc H10L5 (TSC324):

atggaagcac cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcy	120
ggtgaccggt cagtcttctt cttccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgy	180
accctgagg tccatgctgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcy ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgctgctgc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccac cgagaaaaac	420
atctccaaag ccaaggcca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgy	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct	600
cccgtgctgy actccgacgy ctccttctt cttctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagagcc acaacaatc ttcctggaat	780
acaggaactc agatggcagc tcattctccg aattctcagg tccagctggt gcaatctggg	840
gctgaggtga agaagcctgy gtcctcggty aaggtctctt gcaaggcttc tggaggcacc	900
ttcagcagat ctacgatgca ctgggtgcca cagggccctg gacaagggct tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
acgattaccg cggacaaaac caccagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgy cctgttatta ctgtgcgaga ccccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgy ttcaggcgya	1200
ggtggatccg gcggtggcgy atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctct	1260
ccatcctccc tgtctgcac ttaggagac agagtcacca tcaactgcag tgcagctca	1320
agtgaagtt acatgaactg gtatcagcag aaaccaggya aagcccctaa gctcctgatc	1380
tatgactcat ccaaaactgy tctggggty ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg	1440
acagatttca ctctcaccat cagcagctgy caacctgaag attttgcaac ttactactgt	1500
caacagtgga gtcgtaacc acccacttct ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgy	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:25)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H10L5 (TSC324):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP	180
PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTKSLSLSP GQRHNNSSLN	240
TGTQMAGHSF NSQVQLVQSG AEVKKPGSSV KVSCKASGGT FSRSTMHWVR QAPGQGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITADKSTST AYMESSLSR EDTAVYYCAR PQVHYDYNF	360
PYWGQGTLLV VSSGGGSGG GSGGGGSGG GGSIDIQMTQS PSSLSASVGD RVTITCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKLLI YDSSKLAGSV PSRFSGSGSG TDFTLTISSL QPEDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:26)**Последовательность ДНК для Fc H7L6 (TSC334):**

042409

atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
gggtcacccgt cagtcttctc cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctccggg	180
accctgagg tcacatgctg ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaagcat acgcatgctc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaaggcca gccccagaaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatccggg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagg	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgctc	600
ccctgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttccctgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tgcagctggt gcagtctggg	840
gctgaggtga agaagcctgg gcctcagtg aaggtctcct gcaaggcttc tggatacacc	900
ttcaccagat ctacgatgca ctgggtgcca caggccctcg gacaaggctc tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagggctc	1020
accatgacca gggacacgct catcagcaca gcctacatgg agctgagcag gctgagatct	1080
gacgacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcgga	1200
gggtgatccg gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctct	1260
ccatcctccc tgtctgcctc tgtaggagac agagtcacca tcaactgcag tgccagctca	1320
agtgtaatgt acatgaactg gtatcagcag aaaccagga aagcccctaa gagatggatt	1380
tatgactcat ccaaactggc ttctggggtc ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg	1440
acagatttca ctctacccat cagcagctct caacctgaag attttgcaac ttactactgt	1500
caacagtgga gtcgtaacc acccaatttc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:27)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H7L6 (TSC334):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP	180
PVLDSDGSEF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTKSLSLSLP GQRHNNSSLN	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGASV KVSCKASGYT FTRSTMHWVR QAPGQGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQRFKDRV TMRDTSIST AYMELSLRS DDTAVYYCAR PQVHYDNGF	360
PYWGQGTIVT VSSGGGSGG GSGGGGSGG GSDIQMTQS PSSLSASVGD RVTITCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLASGV PSRFSGSGG TDFTLTISL QPEDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS*	504

(SEQ ID NO:28)

Последовательность ДНК для Fc H7L7 (TSC335):

atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaaccgt cagtcttctc cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg	180
accctgagg tccatgcggt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgcgc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaagggca gccccagaaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatgcgcg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgctt	600
cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttcctgaaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tgcagctggt gcagtctggg	840
gctgaggtga agaagcctgg ggcctcagtg aaggtctctc gcaaggcttc tgatacacc	900
ttcaccagat ctacgatgca ctgggtgcga caggcccctg gacaagggtt tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagggtc	1020
accatgacca gggacacgtc catcagcaca gcctacatgg agctgagcag gctgagatct	1080
gacgacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga ccccgaagtc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcggg	1200
ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg aaattgtgtt gacgcagtct	1260
ccagccaccc tgtctttgtc tccaggggaa agagccacc ctcctctcag tgcagctca	1320
agtgtaaagt acatgaactg gtaccagcag aaacctggcc tggcgcccag gagatggatt	1380
tatgactcat ccaaaactgc ttctgqcatc ccaqacaqqt tcaqtqqcaq tqqtctqqq	1440
acagacttca ctctcaccat cagcagactg gagcctgaag attttgcagt gtattactgt	1500
cagcagtgga gtcgtaaccc acccacttcc ggcggaggga ccaagggtga gatcaaacgg	1560
tctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:29)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H7L7 (TSC335):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP	180
PVLDSDGSEF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTKSLSLSP GQRHNNSLN	240
TGTQMGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGASV KVSCKASGYT FTRSTMHWVR QAPGQGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TMTTRDTSIST AYMELSRLLS DDTAVYYCAR PQVHYDYNF	360
PYWGQGLVLT VSSGGGSGG GSGGGGSGG GGSEIVLTQS PATLSLSPGE RATLSCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGLAAPRWI YDSSKLAGSI PDRFSGSGS TDFTLTISRL EPEDFAVYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	504

(SEQ ID NO:30)**Последовательность ДНК для Fc H7L8 (TSC336):**

atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
---	----

gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttcct ctcccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccg	180
accctgagg tcacatgctg ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgctg ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccacgctt	600
ccogtctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaactg ctctctatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttccctgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tgcagctggt gcagctggtg	840
gctgagggtg agaagcctgg gccctcagtg aaggtctctt gcaaggcttc tggatacacc	900
ttaccagat ctacgatgca ctgggtgcca caggccccctg gacaagggtt tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagggtc	1020
accatgacca gggacacgtc catcagcaca gcctacatgg agctgagcag gctgagatct	1080
gacgacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaa cctggtcacc gtctctcag gtggaggcgg ttcaggcgga	1200
ggtggatccg gcgggtggcg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctct	1260
ccttccacc tgtctgcatc tgtaggagac agagtcacca tcaettgcag tgcagctca	1320
agtgtaaagt acatgaactg gtatcagcag aaaccagga aagccctaa gagatggatt	1380
tatgactcat ccaaactggc ttctggggtc ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg	1440
acagaattca ctctcaccat cagcagcctg cagcctgatg attttgcaac ttattactgc	1500
caacagtgga gtcgtaaccc acccaacttc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaaccg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:31)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H7L8 (TSC336) :

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDNLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP	180
PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTKSLSLSLP GQRHNNSSLN	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGASV KVSCKASGYT FTRSTMHWVR QAPGQGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TMTRDTSIST AYMELSLRLS DDTAVYYCAR PQVHYDYNFG	360
PYWGQGTLLV VSSGGGSGG GSGGGGSGG GSDIQMTQS PSTLSASVGD RVTITCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLASGV PSRFSGSGSG TEFTLTISSL QPDDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS*	504

(SEQ ID NO:32)**Последовательность ДНК для Fc H8L6 (TSC337):**

atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
gggtgcaccgt cagtcttctt cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctccggt	180
accctgagg tcacatgctt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgctt ggtctccaac aaagccctcc cagcccccatt cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaaggcca gccccagaaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaaa gaccacgctt	600
cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttccctgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tgcagctggt gcagtctggg	840
gctgagggtg agaagcctgg gccctcagtg aaggtttctt gcaaggcatc tggatacacc	900
ttcaccagat ctacgatgca ctgggtgcca caggcccctg gacaagggtt tgagtggatg	960
ggatatacct atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
accatgacca gggacacgct cagcagcaca gtctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgctaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctctcag gtggaggcgg ttcaggcggg	1200
gggtggatcc gcgggtggcg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctct	1260
ccatcctccc tgtctgcata ttaggagac agagtacca tcaactgcag tgcagctca	1320
agtgtaatgt acatgaactg gtatcagcag aaaccagga aagcccctaa gagatggatt	1380
tatgactcat ccaaactggc ttctggggtc ccatcaaggc tcagtggcag tggatctggg	1440
acagatttca ctctaccat cagcagctcg caacctgaag attttgcaac ttactactgt	1500
caacagtgga gtcgtaacc acccactttc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:33)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H8L6 (TSC337):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP	180
PVLDSGSEFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTKSLSLSLP GQRHNNSSLN	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGASV KVSCKASGYT FTRSTMHWVR QAPGQGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TMRDTSST VYMELSSLR EDTAIVYYCAR PQVHYDYNFG	360
PYWGQGTLLV VSSGGGSGG GSGGGGSGG GSDIQMTQS PSSLASVGD RVTITCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLAGV PSRFSGSGG TDFTLTISL QPEDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS*	504

(SEQ ID NO:34)**Последовательность ДНК для Fc H8L7 (TSC338):**

042409

atggaagcac cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gccccagcacc tgaagccgcy	120
ggtgcaccgt cagtcttctc cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg	180
acccctgagg tcacatgctg ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcy ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgctc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaaaggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgcgc tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgct	600
cccgctctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaaact cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaatc ttcctgaaat	780
acaggaactc agatggcagc tcattctccg aattctcagg tgcagctggt gcagtctggg	840
gctgaggtga agaagcctgg ggcctcagtg aaggtttctc gcaaggcatc tggatacacc	900
ttcaccagat ctacgatgca ctgggtgcca caggccctc gacaagggct tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
accatgacca gggacacgct cacgagcaca gtctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgctaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaagAAC cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcggg	1200
ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc gccggatctg aaatgtgtt gacgcagtct	1260
ccagccacc tgtctttgtc tccaggggaa agagccacc tctcctgcag tgccagctca	1320
agtgtaaagt acatgaactg gtaccagcag aaacctggcc tggcgcccag gagatggatt	1380
tatgactcat ccaaaactgg ttctggcatc ccagacaggt tcagtggcag tgggtctggg	1440
acagacttca ctctcaccat cagcagactg gagcctgaag attttgagc gtattactgt	1500
cagcagtgga gtcgtaacc acccactttc gccggaggga ccaagggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:35)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H8L7 (TSC338):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP	180
PVLDSGDSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTKSLSLSP GQRHNNSSLN	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGASV KVSKASGYT FTRSTMHWVR QAPGQGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TMDRDTSTST VMELSSLRS EDTAVYYCAR PQVHYDNGF	360
PYWGQGTIVT VSSGGGSGG GSGGGGSGG GGSEIVLTQS PATLSLSPGE RATLSCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGIAPRRWI YDSSKLASGI PDRFSGSGS TDFTLTISRL EPEDFAVYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:36)

Последовательность ДНК для Fc H8L8 (TSC339):

atggaagcac cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gccccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgaccgct cagtcttctt cttcccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccg	180
accctgagg tccatgctg ggtgggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggagggtgcat aatgccaaaga caaagcccg	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgctc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccac cgagaaaacc	420
atctccaaa ccaaaaggca gccccagaa cacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccacgct	600
cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaatte ttccctgaat	780
acaggaactc agatggcagc tcattctccg aattctcagg tgcagctggt gcagtctggg	840
gctgaggtga agaagcctgg ggctcagtg aaggttctc gcaaggcatc tggatacacc	900
ttcaccagat ctacgatgca ctgggtgcca caggccctg gacaaggctc tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
acctgacca gggacacgct cacgagcaca gtctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgctaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggac cctggctacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcggg	1200
ggtggtaccg gcgggtggcg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctc	1260
ccttccacc tgtctgcac tgtaggagac agagtacca tcaactgacg tgccagctca	1320
agtgtaagtt acatgaactg gtatcagcag aaaccagga aagcccctaa gagatggatt	1380
tatgactcat ccaaaactgc ttctgggtc ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg	1440
acagaattca ctctcaccat cagcagcctg cagcctgatg attttgaac ttattactgc	1500
caacagtgga gtcgtaacc acccacttct ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:37)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H8L8 (TSC339):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTFP	180
PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTKSLSLSP GQRHNNSSLN	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGASV KVSCKASGYT FTRSTMHWVR QAPGQGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TMRDTSST VYMESSLSR EDTAVYYCAR PQVHYDNGF	360
FYWGQGTTLVTVSSGGGGSG GSGGGGGSG GSDIQMTQS PSTLSASVGD RVTITCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLAGV PSRFSGSGSG TEFTLTISL QPDDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	504

(SEQ ID NO:38)

Последовательность ДНК для Fc H10L6 (TSC340):

atggaagcac cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaaccgt cagtcttctt cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccg	180
acccctgagg tcacatgctg ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgctc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccac cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccacgcct	600
cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaactg cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttccctgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tccagctggt gcaatctggg	840
gctgagggtg agaagcctgg gtccctcggg aaggtctcct gcaaggcttc tggaggcacc	900
ttcagcagat ctacgatgca ctgggtgcca caggcccctg gacaaggctt tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
acgattaccg cggacaaatc cacgagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga ccccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcgga	1200
ggtggatccc gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctc	1260
ccatcctccc tgtctgcac cgttaggagac agagtacca tcaactgcag tgcagctca	1320
agtgtaaagt acatgaactg gtatcagcag aaaccagga aagcccctaa gagatggatt	1380
tatgactcat ccaactggc ttctggggtc ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg	1440
acagatttca ctctcacat cagcagctg caacctgaag attttgcaac ttactactgt	1500
caacagtgga gtctgaacc acccactttc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:39)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H10L6 (TSC340) :

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTFP	180
PVLDSGDSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTKQSLSLSP GQRHNNSSLN	240
TGTQMAHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGSSV KVSCKASGGT FSRSTMHWVR QAPGQGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITADKSTST AYMESSSLRS EDTAVYYCAR PQVHYDNGF	360
PYWGQGTIVT VSSGGGSGG GSGGGGSGG GSDIQMTQS PSSLSASVGD RVTITCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLASGV PSRFSGSGSG TDFTLTISSL QPEDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:40)**Последовательность ДНК для Fc H10L7 (TSC341):**

042409

atggaagcac cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttctt cttccccca aaaccaagg acaccctcat gatctccggt	180
accctgagg tcacatgctt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgctt ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaaggcca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatccggt	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgctt	600
cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttccctgaat	780
acaggaaetc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tccagctggt gcaatctggg	840
gctgaggtga agaagcctgg gtccctcggt aaggtctcct gcaaggcttc tggaggcacc	900
ttcagcagat ctacgatgca ctgggtgcga caggccccctg gacaagggtt tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
acgattaccg cggacaaatc cagcagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcggg	1200
ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg aaattgtgtt gacgcagtct	1260
ccagccacc tgtctttgtc tccaggggaa agagccacc tctctcgag tgcagctca	1320
agtgtaaagt acatgaactg gtaccagcag aaacctggcc tggcgcccag gagatggatt	1380
tatgactcat ccaaaactgg ttctggcatc ccagacaggt tcagtggcag tgggtctggg	1440
acagacttca ctctcaccat cagcagactg gagcctgaag attttgcagt gtattactgt	1500
cagcagtgga gtcgtaacc acccacttcc ggcgagggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:41)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H10L7 (TSC341):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP	180
PVLDSDGSEF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNS YTKQSLSLSP GQRHNNSSLN	240
TGTQMGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGSSV KVSCKASGGT FSRSTMHWVR QAPGGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITADKSTST AYMELSSLRS EDTAVYYCAR PQVHYDINGF	360
PYWGQGTLLV VSSGGGSGG GSGGGGSGG GGSEIVLTQS PATLSLSPGE RATLSCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGLAPRRWI YDSSKLAGSI PDRFSGSGSG TDFTLTISRL EPEDFAVYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:42)

Последовательность ДНК для Fc H10L8 (TSC342):

atggaagcac cagcgagct tctctctc ctgctactct ggtcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttctt cttccccca aaaccsaag acaccctcat gatctcccgg	180
accctgagc tcacatgctt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggagggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgctt ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccacgctt	600
ccctgtctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaactt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctcgg ggtcagaggc acaacaattc ttccctgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctcgg aattctcagg tccagctggt gcaatctggg	840
gctgagggtg agaagcctgg gtctctgggt aaggtctctt gcaaggcttc tggaggcacc	900
ttcagcagat ctacgatgca ctgggtgctg caggcccctg gacaaggctt tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
acgattaccg cggacaaatc cacgagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgctgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcgga	1200
ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctct	1260
ccttccacc tgtctgcac tgtaggagac agagtcacca tcaactgagc tgcagctca	1320
agtgtgaagt acatgaactg gtatcagcag aaaccagga aagcccctaa gagatggatt	1380
tatgactcat ccaaactggc ttctggggtc ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg	1440
acagaattca ctctcaccat cagcagcctg cagcctgatg attttgcaac ttattactgc	1500
caacagtgga gtcgtaacc acccactttc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:43)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для Fc H10L8 (TSC342):

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTFP	180
FVLDSGDGFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNS YQKSLSLSP GQRHNSSLN	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG AEVKPKGSSV KVSCKASGGT FSRSTMHWVR QAPGGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITADKSTST AYMELSSLRS EDTAVYICAR PQVHYDNGF	360
PYWGQGTIVT VSSGGGSGG GSGGGGSGG GGSDIQMTQS PSTLSASVGD RVTITCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLAGSV PSRFSGGSGG TEFTLTISSL QPDDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:44)

Последовательность ДНК для TSC370:

atggaagcac cagcgcagct tctcttctct ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttctt cttcccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg	180
acccctgagg tcacatgctt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagtct	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgctt ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccacgctt	600
cccgtgctgg actccgacgg ctcttctctt ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaactt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctt cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattt ttccctgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tccagctggt gcaatctggg	840
gctgaggtga agaagcctgg gtccctcggg aaggtctcct gcaaggcttc tggatatacc	900
ttcagcagat ctacgatgca ctgggtgcca caggcccctg gacaaggctt tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
acgattaccg cggacaaatc cacgagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcggg	1200
ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctt	1260
ccttccacc tgtctgcatc tgtaggagac agagtcacca tcaactgcag tgcagctca	1320
agtgtaagtt acatgaactg gtatcagcag aaaccagga aagcccctaa gagatggatt	1380
tatgactcat ccaaactggc ttctggggtc ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg	1440
acagaattca ctctcaccat cagcagcctg cagcctgatg attttgcaac ttattactgc	1500
caacagtgga gtcgtaacc acccaacttc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:45)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для TSC370:

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP	180
PVLSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNS YTKSLSLSP GQRHNNSLN	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGSSV KVSCKASGYT FSRSTMHWVR QAPGGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITADKSTST AYMESSLSR EDTAVYYCAR PQVHYDINGF	360
PYWGQGLVLT VSSGGGSGG GSGGGGSGG GSDIQMTQS PSTLSASVGD RVTITCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLASGV PSRFSGSGSG TEFTLTISSL QPDDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:46)

Последовательность ДНК для TSC371:

atggaagcac cagcgcagct tctcttctct ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg	180
accctgaggt tcacatgctt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagtcc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgctt ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaaggcca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggcct ctatccaagc	540
gacatcgcgg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccacgctt	600
cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaactt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggtctt gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttccttgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tccagctggt gcaatctggg	840
gctgaggtga agaagcctgg gtccctcggg aaggtctcct gcaagcctc tggaggcacc	900
ttcagcagat ctacgatgca ctgggtgcga caggcccctg gacaaggcct tgagtggata	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
acgattaccg cggacaaatc cagcagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcggg	1200
ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctct	1260
ccttccacc tgtctgcctc tgtaggagac agagtcacca tcaactgcag tgcagctca	1320
agtgtgaagt acatgaactg gtatcagcag aaaccagga aagcccctaa gagatggatt	1380
tatgactcat ccaactggc ttctggggtc ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg	1440
acagaattca ctctcaccat cagcagcctg cagcctgatg attttgcaac ttattactgc	1500
caacagtgga gtcgtaacc acccactttc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:47)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для TSC371:

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP	180
PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNS YTKSLSLSP GQRHNSSLN	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGSSV KVSCKASGGT FSRSTMHWVR QAPGGLEWI	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITADKSTST AYMELSSLR EDTAIVYYCAR PQVHYDNGF	360
PYWGQGTLLV VSSGGGSGG GSGGGGSGG GSDIQMTQS PSTLSASVGD RVTITCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLAGV PSRFSGSGS TEFTLTISSL QPDDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:48)

Последовательность ДНК для TSC372:

atggaagcac cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttctt cttcccccca aaacccaag acaccctcat gatctcccgg	180
accctgagg tcacatgctt ggtgggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggagggtcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgctt ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgcgg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccacgcct	600
cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcacctt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttccttgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tccagctggt gcaatctggg	840
gctgagggtg agaagcctgg gtctctcggg aaggtctctt gcaaggcttc tggaggcacc	900
ttcagcagat ctacgatgca ctgggtgcga caggcccctg gacaagggct tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
acgattaccg cggacaaaatc cacgagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcggg	1200
ggtggatccg gcgggtggcg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctct	1260
ccttccacc tgtctgcac tgtaggagac agagtcacca tgacttgagc tgccagctca	1320
agtgtaatgt acatgaactg gtatcagcag aaaccagggg aagcccctaa gagatggatt	1380
tatgactcat ccaaaactgg tcttgggtc ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg	1440
acagaattca ctctcaccat cagcagcctg cagcctgatg attttgcaac ttattactgc	1500
caacagtgga gtcgtaacc acccacttcc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:49)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для TSC372:

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTP	180
PVLDSDGSEFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTKSLSLSLSP GQRHNNSSLN	240
TGTQMGHSP NSQVQLVQSG AEVKKPGSSV KVSCKASGGT FSRSTMHWVR QAPGQGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITADKSTST AYMELSSLRs EDTAVVYCAR PQVHYDYNGF	360
PYWGQGTIVT VSSGGGGSGG GSGGGGGSGG GGSIDIQMTQS PSTLSASVGD RVTMTCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLAGSV PSRFSGSGSG TEFTLTISSL QPDDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:50)**Последовательность ДНК для TSC390:**

atggaagcac cagcgcagct tctcttctct ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttctt cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg	180
accctgaggt tcacatgctt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgctc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgcgg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgctt	600
cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttccttgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tccagctggt gcaatctggg	840
cctgaggtga agaagcctgg gtctctcggg aaggtctcct gcaaggcttc tggatatacc	900
ttcagcagat ctacgatgca ctgggtgcca caggccccctg gacaaggctt tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaaattca ggacagagtc	1020
acgattaccg cggacaatc cacgagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctctcag gtggaggcgg ttcaggcgga	1200
ggtggatccg gcgggtggcg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctc	1260
ccttccacc tgtctgcac tgtaggagac agagtcacca tcaactgcag tgcagctca	1320
agtgtaaagt acatgaactg gtatcagcag aaaccagga aagcccctaa gagatggatt	1380
tatgactcat ccaaactggc ttctggggtc ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg	1440
acagagtcca ctctaccat cagcagcctg cagcctgatg attttgcaac ttattactgc	1500
caacagtgga gtcgtaacc acccaatttc ggcggaggga ccaagtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:51)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для TSC390:

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKFREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTFP	180
PVLDSGSEFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNS YTKSLSLSLP GQRHNNSLNS	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG PEVKKPGSSV KVSCKASGYT FSRSTMHWVR QAPGQGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITADKSTST AYMESSLRS EDTAVYYCAR PQVHYDNGF	360
PYWGQGTIVT VSSGGGSGG GSGGGGSGG GGSIDIQMTQS PSTLSASVGD RVTITCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLAGSV PSRFSGSGSG TEFTLTISSL QPDDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:52)

Последовательность ДНК для TSC391:

atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttctt cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg	180
accctgagg tccatgctgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggagggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgaccaggga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgctc ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaaaggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct	600
ccccgtctgg actccgacg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttccctgaat	780
acaggaactc agatggcag tcatctctcg aattctcagg tccagctggt gcaatctggg	840
cctgaggtga agaagcctgg gtctctcggg aaggtctctt gcaaggcttc tggatatacc	900
ttcagcagat ctacgatgca ctgggtgcca caggcccctg gacaagggct tgagtggata	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
acgattaccg cggacaaaac cacgagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caaccgggtt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctctcag gtggaggcgg ttcaggcggg	1200
ggtggtaccg gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctct	1260
ccttccacc cttctgcatc tgtaggagac agagtcca tcacttgagc tgccagctca	1320
agtgaagtt acatgaactg gtatcagcag aaaccaggga aagcccctaa gagatggatt	1380
tatgactcat ccaaaactggc ttctggggtc ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg	1440
acagagttca ctctcaccat cagcagcctg cagcctgatg attttgcaac ttattactgc	1500
caacagtgga gtcgtaacc acccaacttc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:53)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для TSC391:

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEK	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTF	180
PVLDSDGSEFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTKSLSLSP GQRHNNSSLN	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG PEVKKPGSSV KVSCKASGYT FSRSTMHWVR QAPGQGLEWI	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITADKSTST AYMELSSLR EDTAIVYCAR PQVHYDNGF	360
PYWGQGTLLVTVSSGGGGSGG GSGGGGGSGG GGSIDIQMTQS PSTLSASVGD RVTITCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLASGV PSRFSGSGSG TEFTLTISSL QPDDFATYYC	480
QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS	503

(SEQ ID NO:54)**Последовательность ДНК для TSC392:**

atggaagcac cagcgagct tctcttctc ctgtactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg	180
accctgagg tcacatgctg ggtgggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtagc tggacggcgt ggagggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgctg ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaaaggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgctt	600
cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc ttcctgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tccagctggt gcaatctggg	840
cctgaggtga agaagcctgg gtcctcggtg aaggtctcct gcaaggcttc tggatatacc	900
ttcagcagat ctacgatgca ctgggtgcga caggcccctg gacaagggtc tgagtggatg	960
ggatacatta atcctagcag tcttataact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
acgattaccg cggacaaatc cacgagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcgga	1200
ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc ggcggatctg acatccagat gaccagctct	1260
ccttccacc cgtctgcatc tgtaggagac agagtcacca tgactgagcag tgccagctca	1320
agtgtaatgt acatgaactg gtatcagcag aaaccagggg aagcccctaa gagatggatt	1380
tatgactcat ccaaaactggc ttctggggtc ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg	1440
acagagttca ctctcaccat cagcagcctg cagcctgatg attttgcaac ttattactgc	1500
caacagtgga gtcgtaacc acccactttc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:55)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для TSC392:

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP	180
PVLDSDGSPF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNS YTKSLSLSP GQRHNSSLN	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG PEVKKPGSSV KVSCKASGYT FSRSTMHWVR QAPGGLEWM	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITADKSTST AYMELSSLRS EDTAVYYCAR PQVHYDNGF	360
PYWGQGTTLVT VSSGGGGSGG GSGGGGGSGG GGSIDIQMTQS PSTLSASVGD RVTMTCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLAGSV PSRFSGSGSG TEFTLTISSL QPDDFATYYC	480

QQWSRNPPTF GGGTKVEIKR SSS

503

(SEQ ID NO:56)**Последовательность ДНК для TSC393:**

atggaagcac	cagcgcagct	tctcttctctc	ctgctaactct	ggctcccaga	taccaccggt	60
gagcccaaat	cttctgacaa	aaactcacaca	tgcccaccgt	gcccagcacc	tgaagccgcg	120
ggtycacccg	cagtcttcc	cttcccccca	aaacccaagg	acaccctcat	gatctcccgg	180
accctgag	tcacatg	ggtggtggac	gtgagccacg	aagaccctga	ggtcaagttc	240
aactggtacg	tggacggcgt	ggaggtgcat	aatgccaaga	caaagccgcg	ggaggagcag	300
tacaacagca	cgtaccgtgt	ggtcagcgtc	ctcaccgtcc	tgaccagga	ctggctgaat	360
ggcaaggcat	acgcatg	ggtctccaac	aaagccctcc	cagcccccat	cgagaaaacc	420
atctccaaag	ccaaagggca	gccccgagaa	ccacaggtgt	acaccctgcc	cccatcccgg	480
gatgagctga	ccaagaacca	ggtcagcctg	acctgcctgg	tcaaaggctt	ctatccaagc	540
gacatcgccg	tggagtggga	gagcaatggg	cagccggaga	acaactacaa	gaccacgctt	600
cccggtctgg	actccgacg	ctccttcttc	ctctacagca	agctcaccgt	ggacaagagc	660
aggtggcagc	aggggaacgt	cttctcatgc	tccgtgatgc	atgaggctct	gcacaaccac	720
tacacgcaga	agagcctctc	cctgtctccg	ggtcagaggc	acaacaattc	ttccctgaat	780
acaggaactc	agatggcag	tcattctccg	aattctcagg	tccagctggt	gcaatctggg	840
gctgaggtga	agaagcctgg	gtcctcggtg	aaggtctcct	gcaaggcttc	tggatatacc	900
ttcagcagat	ctacgatgca	ctgggtgcga	caggccccctg	gacaagggct	tgagtggata	960
ggatacatta	atcctagcag	tgcttatact	aattacaatc	agaaattcaa	ggacagagtc	1020
acgattaccg	cggacaaatc	cacgagcaca	gcctacatgg	agctgagcag	cctgagatct	1080
gaggacacgg	ccgtgtatta	ctgtgcgaga	ccccaaagtc	actatgatta	caacgggttt	1140
ccttactg	ggcaaggaac	cctggtcacc	gtctcctcag	gtggaggcgg	ttcaggcgga	1200
ggtgatccg	gcggtggcgg	atcgggtggc	ggcggatctg	acatccagat	gaccagctct	1260
ccttccacc	tgtctgcatc	tgtaggagac	agagtcacca	tgactgagcag	tgccagctca	1320
agtgtaagtt	acatgaactg	gtatcagcag	aaaccagggga	aagcccctaa	gagatggatt	1380
tatgactcat	ccaaaactggc	ttctggggtc	ccatcaaggt	tcagcggcag	tggatctggg	1440
acagagttca	ctctcaccat	cagcagcctg	cagcctgatg	atthttgcaac	ttattactgc	1500
caacagtggga	gtcgtaaacc	accactttc	ggcggaggga	ccaaggtgga	gatcaaacgg	1560
tcctccagct	aa					1572

(SEQ ID NO:57)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для TSC393:

EPKSSDKTHT	CFPCPAPEAA	GAPSVFLFPP	KPKDTLMISR	TPEVTCVVVD	VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH	NAKTKPREEQ	YNSTYRVVSV	LTVLHQDWLN	GKAYACAVSN	KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE	PQVYTLPPSR	DELTKNQVSL	TCLVKGFYPS	DIAVEWESNG	QPENNYKTPP	180
PVLDSGGSFF	LYSKLTVDKS	RWQQGNVFSC	SVMHEALHNR	YTQKSLSLSP	GQRHNNSSLN	240
TGTQMAGHSP	NSQVQLVQSG	AEVKKPGSSV	KVSKASGYT	FSRSTMHWVR	QAPGQGLEWI	300
GYINPSSAYT	NYNQKFKDRV	TITADKSTST	AYMELSSLRS	EDTAVYYCAR	PQVHYDYNFG	360
PYWGQGTTLVT	VSSGGGGSGG	GGSGGGGGSGG	GGSDIQMTQS	PSTLSASVGD	RVTMTCSASS	420
SVSYMNWYQQ	KPKKAPKRWI	YDSSKLAGSV	PSRFSGSGSG	TEFTLTISSL	QPDDFATYYC	480

QQWSRNPTTF GGGTKVEIKR SSS

503

(SEQ ID NO:58)**Последовательность ДНК для TSC394:**

atggaagcac cagcgagct tctctctctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagcccaaat cttctgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgcg	120
ggtgcaccgt cagtcttctt cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccg	180
accctgaggt tcacatgctt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	240
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag	300
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	360
ggcaaggcat acgcatgctc ggtctccaac aaagcctcc cagccccat cgagaaaacc	420
atctccaaag ccaaaggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	480
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatccaagc	540
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgctt	600
cccgctgctg actccgacgg ctctctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	660
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	720
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtcagaggc acaacaattc tccctgaat	780
acaggaactc agatggcagg tcattctccg aattctcagg tccagctggt gcaatctggg	840
cctgaggtga agaagcctgg gtcctcggtg aaggtctcct gcaaggcttc tggatatacc	900
ttcagcagat ctacgatgca ctgggtgcca caggcccctg gacaagggct tgagtggata	960
ggatacatta atcctagcag tgcttatact aattacaatc agaaattcaa ggacagagtc	1020
acgattaccg cggacaaatc cacgagcaca gcctacatgg agctgagcag cctgagatct	1080
gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga cccaagtcc actatgatta caacgggttt	1140
ccttactggg gccaaaggaac cctggtcacc gtctcctcag gtggaggcgg ttcaggcggg	1200
ggtggatccg gcggtggcgg atcgggtggc gccggatctg acatccagat gaccagctct	1260
ccttccaccg tgtctgcata ttagtagagc agagtcacca tgacttgagc tgccagctca	1320
agtgtgaagt acatgaactg gtatcagcag aaaccaggga aagcccctaa gagatggatt	1380
tatgactcat ccaactggc ttctggggtc ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg	1440
acagagtcca ctctcacat cagcagcctg cagcctgatg attttgcaac ttattactgc	1500
caacagtgga gtcgtaacc acccacttc gccggaggga ccaagggtgga gatcaaacgg	1560
tcctccagct aa	1572

(SEQ ID NO:59)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для TSC394:

EPKSSDKTHT CPPCPAPEAA GAPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF	60
NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKAYACAVSN KALPAPIEKT	120
ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTFP	180
PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTQKSLSLSP GQRHNNSSLN	240
TGTQMAGHSP NSQVQLVQSG PEVKKPGSSV KVSCKASGYT FSRSTMHWVR QAPGGLEWI	300
GYINPSSAYT NYNQKFKDRV TITADKSTST AYMELSSLRS EDTAVYYCAR PQVHYDYNFG	360
PYWGGQTLVT VSSGGGSGG GSGGGGSGG GGSIDIQTQS PSTLSASVGD RVTMTCSASS	420
SVSYMNWYQQ KPGKAPKRWI YDSSKLAGSV PSRFSGSGSG TEFTLTISSL QPDDFATYYC	480

(SEQ ID NO:60)**Последовательность ДНК для TSC408:**

atggaagcac cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gatatccaga tgaccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	120
atcacttgcc gggcagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca gcagaaacca	180
gggaaagttc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg ggtcccattc	240
cggttcagtg gcagtggtc tgggacagaa ttactctca ccatcagcag cctgcagcct	300
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac gttcggccaa	360
gggaccaagg tggaaatcaa acgaggtggc ggagggctcg ggggtggcgg atccggaggt	420
ggtggctctc aggtccagct ggtacagtct ggggctgagg tgaagaagcc tggggcttca	480
gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatac acattcactg actactacat gcactgggtg	540
cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta taatgattat	600
actagatagc cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggcac gtctatcagc	660
acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cggccgtgta ttactgtgca	720
agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaaccac agtcaccgtc	780
tcctcgatg agcccaaatc ttctgacaaa actcacacat gccaccctg cccagcacct	840
gaagccgagg gtgcaccgtc agtcttctc tccccccaa aacccaagga caccctcatg	900
atctcccgga ccctgaggt cacatgcgtg gtgggtggac tgagccacga agaccctgag	960
gtcaagtcca actggtagct ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgagg	1020
gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac	1080
tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgcg gtctccaaca aagccctccc agccccatc	1140
gagaaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc	1200
ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc	1260
tatccaagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag	1320
accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg	1380
gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg	1440
cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctcggg gtcagaggca caacaattct	1500
tcctgaata caggaactca gatggcaggt cattctcoga attctcaggt ccagctggtg	1560
caatctgggc ctgaggtgaa gaagcctggg tcctcgggtg aggtctcctg caaggcttct	1620
ggatatacct tcagcagatc tacgatgcac tgggtgcgac aggcccttg acaagggtct	1680
gagtggatag gatacattaa tcctagcagt gcttatacta attacaatca gaaattcaag	1740
gacagagtca cgattaccgc ggacaaatcc acgagcacag cctacatgga gctgagcagc	1800
ctgagatctg aggacacggc cgtgtattac tgtgcgagac cccaagtcca ctatgattac	1860
aacgggtttc cttactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcctcagg tggaggcggg	1920
tcaggcggag gtggatccgg cgggtggcga tcgggtggcg gcggatctga catccagatg	1980
accagctctc cttccacct gtctgcattc gtaggagaca gagtcacat caottgcagt	2040
gccagctcaa gtgtaagtta catgaactgg tatcagcaga aaccagggaa agcccctaag	2100
agatggatth atgactcatc caaactggct tctgggttcc catcaaggtt cagcggcagt	2160
ggatctggga cagagttcac tctcaccatc agcagcctgc agcctgatga ttttgcaact	2220
tattactgcc aacagtggag tcgtaacca cccactttcg gcggaggag caaggtggag	2280
atcaaacggt cctccagcta a	2301

(SEQ ID NO:61)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для TSC408:

DIQMTQSPSA	MSASVGDVRT	ITCRASKSIS	KYLAWFQQKP	GKVPKLRHS	GSTLQSGVPS	60
RFSGSGSGTE	FTLTISSLQP	EDFATYYCQQ	HIEYPWTFGQ	GTKVEIKRGG	GGSGGGSSGG	120
GGSQVQLVQS	GAEVKKGAS	KVSKKASGY	TFTDYMHVW	RQAPGGLEW	MGYFNPYNDY	180
TRYAQKFKQGR	VTMTRDTSIS	TAYMELSSLR	SDDTAVYYCA	RSFGYYDAMD	YWGQGTITVTV	240
SSSEPKSSDK	THTCPPCPAP	EAGAPSVFL	FPPKPKDTLM	ISRTPEVTCV	VVDVSHEDPE	300
VKFNWYVDGV	EVHNAKTKPR	EEQYNSTYRV	VSVLTVLHQD	WLNKAYACA	VSNKALPAPI	360
EKTISKAKGQ	PREPQVYTLF	PSRDELTKNQ	VSLTCLVKGF	YPSDIAVEWE	SNGQPENNYK	420
TTPFVLDSDG	SFFLYSKLTV	DKSRWQQGNV	FSCVMHEAL	HNHYTQKSLS	LSPGQRHNS	480
SLNTGTQMG	HSPNSQVQLV	QSGPEVKKPG	SSVKVSKAS	GYTFSRSTMH	WVRQAPGQGL	540
EWIGYINPSS	AYTNYNQKFK	DRVTITADKS	TSTAYMELSS	LRSEDTAVYY	CARPQVHYDY	600
NGFPYWGQGT	LVTVSSGGGG	SGGGSSGGGG	SGGGSSDIQM	TQSPSTLSAS	VGDRVITICS	660
ASSSVSYMNV	YQQKPKGKPK	RWIYDSSKLA	SGVPSRFSGS	SGSSTEFTLI	SSLQPDFDFA	720
YQCQQWSRNP	PTFGGGTKVE	IKRSS				746

(SEQ ID NO:62)

Последовательность ДНК для TSC409:

atggaagcac	cagcgcagct	tctcttcttc	ctgctactct	ggctcccaga	taccaccggt	60
gatatccaga	tgaccacagtc	tccatccgcc	atgtctgcat	ctgtaggaga	cagagtcacc	120
atcacttgcc	ggcgcagtaa	gagcattagc	aaatatttag	cctggtttca	gcagaaacca	180
gggaaagtcc	ctaagctccg	catccattct	ggatctactt	tgcaatcagg	ggtcccactct	240
cggttcagtg	gcagtgatc	tgggacagaa	ttactctca	ccatcagcag	cctgcagcct	300
gaagattttg	caactatta	ctgtcaacag	catattgaat	acccgtggac	gttcggccaa	360
gggaccaagc	tggaaatcaa	acgaggtggc	ggagggctctg	ggggtggcgg	atccggaggt	420
ggtggctctc	aggtccagct	ggtacagtct	ggggctgagg	tgaagaagcc	tggggcttca	480
gtgaaggtct	cctgcaaggc	ttctggatac	acattcaactg	actactacat	gcactgggtg	540
cgacaggccc	ctggacaagg	gcttgagtgg	atgggatatt	ttaatcctta	taatgattat	600
actagatacg	cacagaagtt	ccagggcaga	gtcaccatga	ccagggacac	gtctatcagc	660
acagcctaca	tggagctgag	cagcctgaga	tctgacgaca	cggccgtgta	ttactgtgca	720
agatcggatg	gttactacga	tgctatggac	tactggggtc	aaggaaccac	agtcaccgtc	780
tcctcagtg	agcccaaatac	ttctgacaaa	actcacacat	gcccaccgtg	cccagcacct	840
gaagccgcgg	gtgcaccgtc	agtcttcttc	ttcccccaaa	aaaccaagga	caccctcatg	900
atctcccggg	cccctgaggt	cacatgcgtg	gtggtggacg	tgagccacga	agaccctgag	960
gtcaagttca	actggtacgt	ggacggcgtg	gaggtgcata	atgccaagac	aaagccgcgg	1020
gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgtg	gtcagcgtcc	tcaccgtcct	gcaccaggac	1080
tggctgaatg	gcaaggcgta	cgcgtgcgcg	gtctccaaca	aagccctccc	agccccatc	1140
gagaaaacca	tctccaagc	caaagggcag	ccccgagAAC	cacaggtgta	caccctgccc	1200
ccatcccggg	atgagctgac	caagaaccag	gtcagcctga	cctgcctggt	caaaggcttc	1260
tatccaagcg	acatgcctgt	ggagtgggag	agcaatgggc	agccggagaa	caactacaag	1320
accacgcctc	ccgtgctgga	ctccgacggc	tccttcttcc	tctacagcaa	gctcaccgtg	1380
gacaagagca	ggtggcagca	ggggaacgtc	ttctcatgct	ccgtgatgca	tgaggtctctg	1440

042409

cacaaccact	acacgcagaa	gagcctctcc	ctgtctccgg	gtcagaggca	caacaattct	1500
tccttgaata	caggaactca	gatggcaggt	cattctccga	attctcaggt	ccagctgggtg	1560
caatctgggc	ctgaggtgaa	gaagcctggg	tcctcgggtg	aggctctcctg	caaggcttct	1620
ggatatacct	tcagcagatc	tacgatgcac	tgggtgcgac	aggcccctgg	acaagggtctt	1680
gagtgatgg	gatacatata	tcctagcagt	gcttatacta	attacaatca	gaaattcaag	1740
gacagagtca	cgattaccgc	ggacaaatcc	acgagcacag	cctacatgga	gctgagcagc	1800
ctgagatctg	aggacacggc	cgtgtattac	tgtgcgagac	cccaagtcca	ctatgattac	1860
aacgggttcc	cttactgggg	ccaaggaacc	ctggtcaccg	tctcctcagg	tggagggcgt	1920
tcagggcgag	gtggatcccg	cggtggcgga	tcgggtggcg	gcggatctga	catccagatg	1980
accagctctc	cttccaccct	gtctgcatct	gtaggagaca	gagtcacccat	gacttgcaat	2040
gccagctcaa	gtgtaagtta	catgaactgg	tatcagcaga	aaccagggaa	agcccctaag	2100
agatggattt	atgactcatt	caaactggct	tctgggtgct	catcaagggt	cagcggcagt	2160
ggatctggga	cagagttcac	tctcaccatc	agcagcctgc	agcctgatga	ttttgcaact	2220
tattactgcc	aacagtgagg	tcgtaacca	cccactttcg	gcggagggac	caaggtggag	2280
atcaaacggt	cctccagcta	a				2301

(SEQ ID NO:63)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для TSC409:

DIQMTQSPSA	MSASVGDRV	ITCRASKSIS	KYLAWFQQKP	GKVPKLRHIS	GSTLQSGVPS	60
RFSGSGSGTE	FTLTISSLQP	EDFATYYCQQ	HIEYPWTFGQ	GTKVEIKRGG	GGSGGGSGG	120
GGSQVQLVQS	GAEVKPKGAS	VKVSCKASGY	TFTDYMHVW	RQAPGQGLEW	MGYFNPYNDY	180
TRYAQKFKGR	VTMTRDTSIS	TAYMELSSLR	SDDTAVYYCA	RSDGYYDAMD	YWGQGTITVTV	240
SSSEPKSSDK	THTCPPCPAP	EAAGAPSVFL	FPPKPKDTLM	ISRTPPEVTCV	VVDVSHEDPE	300
VKFNWYVDGV	EVHNAKTKPR	EEQYNSTYRV	VSVLTIVLHQD	WLNGKAYACA	VSNKALPAPI	360
EKTISKAKGQ	PREPQVYTLF	PSRDELTKNQ	VSLTCLVKGF	YPSDIAVEWE	SNGQPENNYK	420
TTPPVLDSDG	SFFFLYSKLTV	DKSRWQQGNV	FSCSVMHEAL	HNHYTQKSL	LSPGQRHNS	480
SLNTGTQVAG	HSPNSQVQLV	QSGPEVKKPG	SSVKVSKAS	GYTFSRSTMH	WVRQAPGQGL	540
EWMGYINPSS	AYTNYNQKFK	DRVITITADKS	TSTAYMELSS	LRSEDTAVYY	CARPQVHYDY	600
NGFPYWGQGT	LVTVSSGGGG	SGGGSGGGG	SGGGSDIQM	TQSPSTLSAS	VGDRVMTCS	660
ASSSVSYMNW	YQQKPKGKPK	RWIYDSSKLA	SGVPSRFSGS	GSQTEFTLTI	SSLQPDDEFAT	720
YYCQQWSRNP	PTFGGKTKVE	IKRSSS				746

(SEQ ID NO:64)

Последовательность ДНК для TSC410:

atggaagcac	cagcgagct	tctcttctc	ctgctactct	ggctcccaga	taccaccggt	60
gataccaga	tgaccagtc	tccatccgcc	atgtctgcat	ctgtaggaga	cagagtcacc	120
atcacttgc	ggcgagtaa	gagcattagc	aaatatttag	cctggtttca	gcagaaacca	180
gggaaagttc	ctaagctccg	catccattct	ggatctactt	tgcaatcagg	ggtcccatct	240
cggttcagtg	gcagtgatc	tgggacagaa	tttactctca	ccatcagcag	cctgcagcct	300
gaagattttg	caacttatta	ctgtcaacag	catattgaat	accctgggac	gttcggccaa	360
gggaccaag	tggaaatcaa	acgaggtggc	ggagggctctg	gggggtggcgg	atccggaggt	420
ggtggctctc	aggtccagct	ggtacagtct	ggggctgagg	tgaagaagcc	tggggcttca	480
gtgaaggtct	cctgcaaggc	ttctggatac	acattcactg	actactacat	gcactgggtg	540

cgacaggccc	ctggacaagg	gcttgagtgg	atgggatatt	ttaatcctta	taatgattat	600
actagatacg	cacagaagtt	ccagggcaga	gtcaccatga	ccagggacac	gtctatcagc	660
acagcctaca	tggagctgag	cagcctgaga	tctgacgaca	cggccgtgta	ttactgtgca	720
agatcggatg	gttactacga	tgctatggac	tactggggtc	aaggaaccac	agtcaccgtc	780
tcctcagatg	agcccaaate	ttctgacaaa	actcacacat	gcccaccgtg	cccagcacct	840
gaagccgctg	gtgcaccgtc	agtcttcttc	ttcccccaa	aacccaagga	caccctcatg	900
atctcccggg	cccctgaggt	cacatgcgtg	gtgggtggacg	tgagccaaga	agaccctgag	960
gtcaagtcca	actggtacgt	ggacggcgtg	gaggtgcata	atgcccaagac	aaagccgctg	1020
gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgtg	gtcagcgtcc	tcaccgtcct	gcaccaggac	1080
tggctgaatg	gcaaggcgtg	cgcgtgcgcg	gtctccaaca	aagccctccc	agccccatc	1140
gagaaaacca	tctccaaagc	caaagggcag	ccccgagAAC	cacaggtgta	caccctgccc	1200
ccatcccggg	atgagctgac	caagaaccag	gtcagcctga	cctgcctggg	caaaggcttc	1260
tatccaagcg	acatcgccgt	ggagtgggag	agcaatgggc	agccggagaa	caactacaag	1320
accacgcctc	ccgtgctgga	ctccgacggc	tccttcttcc	tctacagcaa	gtcaccctg	1380
gacaagagca	ggtggcagca	ggggaacgtc	ttctcatgct	ccgtgatgca	tgaggctctg	1440
cacaaccact	acacgcagaa	gagcctctcc	ctgtctccgg	gtcagaggca	caacaattct	1500
tccttgaaata	caggaactca	gatggcaggt	cattctccga	attctcaggt	ccagctgggtg	1560
caatctgggg	ctgaggtgaa	gaagcctggg	tcctcgggtg	aggtctcctg	caaggcttct	1620
ggatatacct	tcagcagatc	tacgatgcac	tgggtgcgac	aggcccctgg	acaagggctt	1680
gagtggatag	gatacattaa	tcctagcagt	gcttatacta	attacaatca	gaaattcaag	1740
gacagagtca	cgattaccgc	ggacaaatcc	acgagcacag	cctacatgga	gctgagcagc	1800
ctgagatctg	aggacacggc	cgtgtattac	tgtgcgagac	cccaagtcca	ctatgattac	1860
aacgggtttc	cttactgggg	ccaaggaacc	ctggtcaccg	tctcctcagg	tggaggcggg	1920
tcaggcggag	gtggatccgg	cggtggcgga	tcgggtggcg	gcggatctga	catccagatg	1980
accagctctc	cttccaccct	gtctgcatct	gtaggagaca	gagtcacat	gacttgacgt	2040
gccagctcaa	gtgtaagtta	catgaactgg	tatcagcaga	aaccagggaa	agcccctaag	2100
agatggattt	atgactcatc	caaactggct	tctgggttcc	catcaaggtt	cagcggcagt	2160
ggatctggga	cagagttcac	tctcaccatc	agcagcctgc	agcctgatga	ttttgcaact	2220
tattactgcc	aacagtggag	tcgtaacca	cccactttcg	gctggaggac	caaggtggag	2280
atcaaacggt	cctccagcta	a				2301

(SEQ ID NO:65)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для TSC410:

DIQMTQSPSA	MSASVGDRVT	ITCRASKSIS	KYLAWFQQKP	GKVPKLRHIS	GSTLQSGVPS	60
RFSGSGSGTE	FTLTISSLQP	EDFATYYCQQ	HIEYPWTFGQ	GTKVEIKRGG	GGSGGGGSGG	120
GGSQVQLVQS	GAEVKKPGAS	VKVSCKASGY	TFTDYMHMWV	RQAPGQGLEW	MGYFNPYNDY	180
TRYAQKFKQGR	VTMTRDTSIS	TAYMELSSLR	SDDTAVYYCA	RS DGYYDAMD	YWGQGT TVTV	240
SSSEPKSSDK	THTCPPCPAP	EAAGAPSVFL	FPPKPKDTLM	ISRTPEVTCV	VVDVSHEDPE	300
VKFNWYVDGV	EVHNAKTKPR	EEQYNSTYRV	VSVLTVLHQD	WLN GKAYACA	VSNKALPAPI	360
EKTI SKAKGQ	PREPQVYTLF	PSRDELTKNQ	VSLTCLVKGF	YPSDIAVEWE	SNGQPENNYK	420
TPPVLDSDG	SFFLYSKLTV	DKSRWQQGNV	FSCSVMHEAL	HNHYTQKSL	LSPGQRHNS	480
SLNTGTQ MAG	HSPNSQVQLV	QSGAEVKKPG	SSVKVSCKAS	GYTFSRSTMH	WVRQAPGQGL	540
EWIGYINPSS	AYTNYNQKFK	DRVITITADKS	TSTAYMELSS	LRSEDTAVYY	CARPQVHYDY	600
NGFPYWGQGT	LVTVSSGGGG	SGGGSGGGGG	SGGGSDIQM	TQSPSTLSAS	VGDRVMTTCS	660

ASSSVSYMNW YQQKPGKAPK RWIYDSSKLA SGVPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPDFFAT 720
 YCQQWSRNP PTFGGGKVE IKRSSS 746

(SEQ ID NO:66)**Последовательность ДНК для TSC411:**

atggaagcac cagcgcagct tctcttctct ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60
 gatatccaga tgaccagtc tccatccgcc atgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120
 atcacttgcc gggcagtaa gagcattagc aaatatttag cctggtttca gcagaaacca 180
 gggaaagtcc ctaagctccg catccattct ggatctactt tgcaatcagg ggtcccctct 240
 cggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa tttactctca ccatcagcag cctgcagcct 300
 gaagattttg caacttatta ctgtcaacag catattgaat acccgtggac gttcggccaa 360
 gggaccaagc tggaaatcaa acgaggtggc ggagggctctg ggggtggcgg atccggaggt 420
 ggtggctctc aggtccagct ggtacagctc ggggctgagg tgaagaagcc tggggcttca 480
 gtgaaggtct cctgcaagc ttctggatac acattcactg actactacat gcactgggtg 540
 cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg atgggatatt ttaatcctta taatgattat 600
 actagatacg cacagaagtt ccagggcaga gtcaccatga ccagggacac gtctatcagc 660
 acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgacgaca cgccctgta ttactgtgca 720
 agatcggatg gttactacga tgctatggac tactggggtc aaggaaccac agtcaccgtc 780
 tcctcagatg agcccaaact ttctgacaaa actcacacat gccaccctg cccagcacct 840
 gaagcccgcg gtgaccctc agtcttctct tccccccaa aacccaagga caccctcatg 900
 atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag 960
 gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgctg 1020
 gaggagcagt acaacagcac gtaccctgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 1080
 tggctgaatg gcaaggcgta cgcgtgcgct gtctccaaca aagccctccc agcccccatc 1140
 gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagAAC cacaggtgta caccctgccc 1200
 ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgectggt caaaggcttc 1260
 tatccaagcg acatcgccgt ggagtgaggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1320
 accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttctctc tctacagaa gctcaccgtg 1380
 gacaagagca ggtggcagca ggggaacgct ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1440
 cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtcagaggca caacaattct 1500
 tcctgaata caggaactca gatggcaggt cattctccga attctcaggt ccagctgggtg 1560
 caatctgggc ctgaggtgaa gaagcctggg tcctcggtga aggtctcctg caaggcttct 1620
 ggatatacct tcagcagatc tacgatgcac tgggtgagc aggccctgg acaaggctt 1680
 gagtggatag gatacattaa tcctagcagt gcttatacta attacaatca gaaattcaag 1740
 gacagagtca cgattaccgc ggacaaatcc acgagcacag cctacatgga gctgagcagc 1800
 ctgagatctg aggacacggc cgtgtattac tgtgagagac cccaagtcca ctatgattac 1860
 aacgggtttc cttactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcctcagg tggaggcgg 1920
 tcaggcggag gtggatccgg cggtgccgga tcgggtggcg gcggatctga catccagatg 1980
 acccagctct cttccaccct gtctgcatct gtaggagaca gagtcaccat gacttgca 2040
 gccagctcaa gtgtaagtta catgaactgg tatcagcaga aaccagggaa agccctaa 2100
 agatggattt atgactcatc caaactggct tctgggtcc catcaaggtt cagcggcag 2160
 ggatctggga cagagttcac tctcaccatc agcagcctgc agcctgatga ttttgcaact 2220
 tattactgcc aacagtgag tcgtaacca cccactttcg gcggagggac caaggtggag 2280
 atcaaacggt cctccagcta a 2301

(SEQ ID NO:67)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для TSC411:

DIQMTQSPSA	MSASVGDVRT	ITCRASKSIS	KYLAWFQQKP	GKVPKLRHS	GSTLQSGVPS	60
RFGSGSGSTE	FTLTISSLQP	EDFATYYCQQ	HIEYPWTFGQ	GTKVEIKRGG	GGSGGGGSGG	120
GGSQVQLVQS	GAEVKPKGAS	VKVSCKASGY	TFTDYYMHVW	RQAPGQGLEW	MGYFNPYNDY	180
TRYAQKFKQGR	VTMTRDTSIS	TAYMELSSLR	SDDTAVYYCA	RSDGYDAMD	YWGQGTTVTV	240
SSSEPKSSDK	THTCPFCFAP	EAGAPSVFL	FPPKPKDTLM	ISRTPEVTCV	VVDVSHEDPE	300
VKFNWYVDVG	EVHNAKTKPR	EEQYNSTYRV	VSVLTVLHQD	WLNKAYACA	VSNKALPAPI	360
EKTISKAKGQ	PREPQVYTLF	PSRDELTKNQ	VSLTCLVKGF	YPSDIAVEWE	SNGQPENNYK	420
TTPPVLDSDG	SFFLYSKLTV	DKSRWQQGNV	FSCSVMHEAL	HNHYTQKSLS	LSPGQRHNS	480
SLNTGTQVMA	HSPNSQVQLV	QSGPEVKKPG	SSVKVSKAS	GYTFSRSTMH	WVRQAPGQGL	540
EWIGYINPSS	AYTNYNQKFK	DRVITADKS	TSTAYMELSS	LRSEDTAVYY	CARPQVHYDY	600
NGFPYWGQGT	LVTVSSGGGG	SGGGGSGGGG	SGGGGSDIQM	TQSPSTLSAS	VGDRVMTCS	660
ASSSVSYMNW	YQQKPKGAPK	RWIYDSSKLA	SGVPSRFSGS	SGSTEFTLTI	SSLQPDFFAT	720
YYCQQW3RNP	PTFGGGTKVE	IKR3SS				746

(SEQ ID NO:68)

Последовательность ДНК для CAS105:

atggaagcac	cagcgagct	tctcttctc	ctgctactct	ggctcccaga	taccaccggt	60
gaggtgcagc	tgggtcagtc	tggagcagag	gtgaaaaagc	ccggagagtc	tctgaagatt	120
tcctgtaaag	gctccgggta	ctcattcact	ggctacaata	tgaactgggt	gcgccagatg	180
ccccggaaa	gcctggagtg	gatgggcaat	attgatcett	attatgggtg	tactacctac	240
aaccggaagt	tcaagggcca	ggtcactatc	tccgccgaca	agtccatcag	caccgcctac	300
ctgcaatgga	gcagcctgaa	ggcctcggac	accgccatgt	attactgtgc	acgctcagtc	360
ggccctttcg	actcctgggg	ccagggcacc	ctggctactg	tctcctctgg	gggtggaggc	420
tctgggtggc	gtggctctgg	cggaggtgga	tccgggtggc	gcggatctgg	cgggggtggc	480
tctgaaattg	tgttgacaca	gtctccagcc	accctgtctt	tgtctccagg	cgaaagagcc	540
accctctcct	gccgagcaag	tgaaaatggt	tacagctact	tagcctggta	ccaacagaaa	600
cctggccagg	ctcctaggct	cctcatctat	tttgcaaaa	ccttagcaga	aggtattcca	660
gccagggtca	gtggcagtg	ctccgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagcctagag	720
cctgaagatt	ttgcagttta	ttactgtcaa	catcattccg	ataatccgtg	gacattcggc	780
caagggacca	aggtggaaat	caaatcctcg	agtgagccca	aatcttctga	caaaactcac	840
acatgcccac	cggtgccagc	acctgaagcc	gcggtgac	cgtcagtctt	cctcttcccc	900
ccaaaaccac	aggacaccct	catgatctcc	cggaccctg	aggtcacatg	cgtgggtggg	960
gacgtgagcc	acgaagacc	tgaggtcaag	ttcaactgg	acgtggacgg	cgtggaggtg	1020
cataatgcca	agacaaagcc	gcgggaggag	cagtacaaca	gcacgtaccg	tgtggtcagc	1080
gtcctcaccg	tcttgaccca	ggactggctg	aatggcaagg	catacgcgtg	cgcgggtctc	1140
aacaagccc	tcccagcccc	catcgagaaa	accatctcca	aagccaaagg	gcagccccga	1200
gaaccacagg	tgtacaccct	gccccatcc	cgggatgagc	tgaccaagaa	ccaggtcagc	1260
ctgacctgcc	tgggtcaagg	cttctatcca	agcgacatcg	ccgtggagtg	ggagagcaat	1320
gggcagccgg	agaacaacta	caagaccacg	cctcccgtgc	tggactccga	cggctccttc	1380
ttcctctaca	gcaagctcac	cgtggacaag	agcaggtggc	agcaggggaa	cgtcttctca	1440
tgctccgtga	tgcagagggc	tctgcacaac	cactacacgc	agaagagcct	ctccctgtct	1500
ccgggtcaga	ggcacaacaa	ttcttccctg	aatacagga	ctcagatggc	aggtcattct	1560

042409

ccgaattctc aggtccagct ggtggagtct gggggcggag tgggtgcagcc tgggcgggtca	1620
ctgaggctgt cctgcaagc ttctggctac accttacta gatctacgat gcaactgggta	1680
aggcagcccc ctggacaagg tctggaatgg attggataca ttaatcctag cagtgccttat	1740
actaattaca atcagaaatt caaggacagg ttcacaatca gcgcagacaa atccaagagc	1800
acagccttcc tgcagatgga cagcctgagg cccgaggaca cggcgtcta tttctgtgca	1860
cgcccccaag tccactatga ttacaacggg tttccttact ggggcccaagg gactcccgtc	1920
actgtctcta gcggtggcgg agggctctggg ggtggcggat cgggaggtgg tggctctgca	1980
caagacatcc agatgacca gtctccaagc agcctgtctg caagcgtggg ggacagggtc	2040
accatgacct gcagtgccag ctcaagtgtg agttacatga actggtacca gcagaagccg	2100
ggcaaggccc ccaaagatg gatttatgac tcatccaaac tggtctctgg agtcctctgct	2160
cgcttcagtg gcagtgggtc tgggaccgac tataacctca caatcagcag cctgcagccc	2220
gaagatttgc ccaattatta ctgccagcag tggagtcgta acccaccac gttcggaggg	2280
gggaccaagc taaaaattac atcctccagc taa	2313

(SEQ ID NO:69)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для CAS105:

EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT GYNNWVRQM PGKGLEWMGN IDPYYGGTTY	60
NRKFKGQVTI SADKSISTAY LQWSSLKASD TAMYYCARSV GPFDSWGQGT LVTVSSGGGG	120
SGGGSGGGG SGGGGSGGGG SEIVLTQSPA TLSLSPGERA TLSCRAENV YSYLAWYQQK	180
PGQAPRLLIY FAKTLAEGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSE PEDFAVYYCQ HHSNDPWTFG	240
QGTKVEIKSS SEPKSSDKTH TCPPCPAPEA AGAPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV	300
DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKAYACAVS	360
NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS RDELTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN	420
GQPENNYKTT PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS	480
PGQRHNSSL NTGTQMAGHS PNSQVQLVES GGGVVQGRS LRLSCKASGY TFRSTMHWV	540
RQAPGQGLEW IGYINPSSAY TNYNQKFKDR FTISADKSKS TAFMQMDSL R PEDTGVYFCA	600
RPQVHYDYNG FPYWQGTTPV TVSSGGGGSG GGGSGGGGSA QDIQMTQSPS SLSASVGRV	660
TMTCSASSSV SYMNWYQQKPK GKAPKRWIYD SSKLASGVPA RFSGSGSGTD YTLTISLQPK	720
EDFATYYCQQ WSRNPPTFGG GTKLQITSSS	750

(SEQ ID NO:70)

Последовательность ДНК для анти-CD37 X TSC445:

atggaagcac cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gagggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc cgggagagtc tctgaagatt	120
tcctgtaagg gctccgggta ctatttact ggctacaata tgaactgggt gcgcagatg	180
cccggaagag gcctggagtg gatgggcaat attgatcctt attatggtgg tactacctac	240
aaccggaagt tcaaggcca ggtcactatc tccgccgaca agtccatcag caccgcctac	300
ctgcaatgga gcagcctgaa ggcctcggac accgcatgt attactgtgc acgctcagtc	360
ggccctttcg actcctgggg ccagggcacc ctggctcactg tctcctctgg ggggtggaggc	420
tctgggtggcg gtggctctgg cggaggtgga tccggtggcg gcggatctgg cgggggtggc	480
tctgaaattg tgttgacaca gtctccagcc accctgtctt tgtctccagg cgaagagcc	540

accctctcct gccgagcaag tgaaaatggt tacagctact tagcctggta ccaacagaaa	600
cctggccagg ctcctaggct cctcatctat tttgcaaaaa ccttagcaga aggtattcca	660
gccagggtta gtggcagtggt ctccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagcctagag	720
cctgaagatt ttgcagttta ttactgtcaa catcattccg ataatccgtg gacattcggc	780
caagggacca aggtggaaat caaatcctcg agtgagccca aatcttctga caaaactcac	840
acatgcccc cggtgccagc acctgaagcc gcgggtgac cgtcagtctt cctcttcccc	900
ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggaccctcg aggtcacatg cgtggtggtg	960
gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg	1020
cataatgcc agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc	1080
gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg catacgcgtg cgcggtctcc	1140
aacaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagccccga	1200
gaaccacagg tgtaacacct gccccatcc cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc	1260
ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctatcca agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat	1320
gggcagccgg agaacaacta caagaccag cctcccgtgc tggactccga cggctccttc	1380
ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcagggtgg agcaggggaa cgtcttctca	1440
tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctcccgtctt	1500
ccgggtcaga ggcacaacaa ttcttccctg aatacaggaa ctcagatggc aggtcattct	1560
ccgaattctc aggtccagct ggtgcaatct gggcctgagg tgaagaagcc tgggtcctcg	1620
gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatat accttcagca gatctacgat gactgggtg	1680
cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg ataggatata ttaatcctag cagtgtctat	1740
actaattaca atcagaaatt caaggacaga gtcacgatta ccgcggacaa atcccagagc	1800
acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgaggaca cggccgtgta ttactgtgcg	1860
agaccccagg tccactatga ttacaacggg tttccttact ggggccaagg aaccctggtc	1920
accgtctcct caggtggagg cgttccaggc ggagggtgat ccggcgggtg cggatcgggt	1980
ggcggcggat ctgacatcca gatgaccag tctccttcca cctgtctgc atctgtagga	2040
gacagagtca ccatgacttg cagtgccagc tcaagtgtaa gttacatgaa ctggatcag	2100
cagaaccag ggaagcccc taagagatgg atttatgact catccaaact ggcttctggg	2160
gtcccatcaa ggttcagcgg cagtggatct gggacagagt tcaactctcac catcagcagc	2220
ctgcagcctg atgattttgc aacttattac tgccaacagt ggagtcgtaa cccaccact	2280
ttcggcggag ggaccaaggt ggagatcaaa cggctctcca gctaa	2325

(SEQ ID NO:71)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для анти-CD37 X TSC445:

EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT GYMNWVRQM PGKGLEWMGN IDPYYGGTTY	60
NRKFKGQVTI SADKSIKSTAY LQWSSLKASD TAMYYCARSV GPFDSWGQGT LVTVSSGGGG	120
SGGGSGGGG SGGGGSGGG SEIVLTQSPA TLSLSPGERA TLSCRAENV YSYLAWYQQK	180
PGQAPRLLIY FAKTLAEGIP ARFSGSGSGT DFTLTISLSE PEDFAVYYCQ HHSDNPWTFG	240
QGTKVEIKSS SEPKSSDKTH TCPPCPAPEA AGAPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV	300
DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKAYACAVS	360
NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS RDELTKNQVLS LTCLVKGFYF SDIAVEWESN	420
GQPENNYKTT PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSL	480
PGQRHNNSSL NTGTQMAGHS PNSQVQLVQS GPEVKKPGSS VKVSKASGY TFSRSTMHWV	540
RQAPGQGLEW IGYINPSSAY TNYNQKFKDR VTITADKSTS TAYMELSSLR SEDTAVYYCA	600
RPQVHYDYNG FPYWQQGTLV TVSSGGGGSG GGGSGGGSG GGGSDIQMTQ SPSTLSASVG	660

DRVTMTCSAS SSVSYMNWYQ QKPGKAPKRW IYDSSKLAG VPSRFSGSGS GTEFTLTISS 720
 LQPDDFATYY CQQWSRNPT FGGGTKEIK RSSS 754

(SEQ ID NO:72)

Последовательность ДНК для анти-CD37 X TSC452:

atggaagcac cagcgcagct tctcttctct ctgctactct ggctcccaga taccaccggt 60
 gaggtgcagc tgggtcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggagagtc tctgaagatt 120
 tctgtaaagg gctccgggta ctcatcact ggctacaata tgaactgggt gcgccagatg 180
 cccgggaaag gcctggagtg gatgggcaat attgatcctt attatgggtg tactacctac 240
 aaccggaagt tcaaggcca ggtaactatc tccgccgaca agtccatcag caccgectac 300
 ctgcaatgga gcagcctgaa ggctcggac accgccatgt attactgtgc acgctcagtc 360
 ggcccttctg actcctgggg ccagggcacc ctggctactg tctcctctgg ggggtggaggc 420
 tctgggtggc gtggctctgg cggaggtgga tccgggtggc gcggatctgg cgggggtggc 480
 tctgaaattg tgttgacaca gtctccagcc accctgtctt tgtctccagg cgaagagcc 540
 accctctcct gccgagcaag tgaatgtt tacagctact tagcctggta ccaacagaaa 600
 cctggccagg ctccatgctt cctcatctat tttgcaaaa ccttagcaga aggtattcca 660
 gccaggttca gtggcagtg ctccgggaca gacttctctc tcaccatcag cagcctagag 720
 cctgaagatt ttgcaagtta ttactgtcaa catcattccg ataatccgtg gacattcggc 780
 caagggacca aggtggaaat caaatcctcg agtgagccca aatcttctga caaaactcac 840
 acatgccacc cgtgccagc acctgaagcc gcgggtgca cgtcagctct cctcttcccc 900
 ccaaaacca aggacaccct catgatctcc cggaccctg aggtcacatg cgtgggtggg 960
 gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag tcaactggg acgtggacgg cgtggaggtg 1020
 cataatgcca agacaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc 1080
 gtcctcaccg tctctacca ggactggctg aatggcaagg catacgcgtg cgcggctctc 1140
 aacaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagccccga 1200
 gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc 1260
 ctgacctgcc tgggtcaaagg ctctatcca agcgcacatc cgtggagtg ggagagcaat 1320
 ggcagccgg agaacaacta caagaccag cctcccgtgc tggactccga cggctccttc 1380
 ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcagggtggc agcaggggaa cgtcttctca 1440
 tgctccgtga tgcagaggg tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct 1500
 ccgggtcaga ggcacaaca ttcttccctg aatacaggaa ctccagatggc aggtcattct 1560
 ccgaattctc aggtccagct ggtggagtct gggggcggag tgggtcagcc tgggaggta 1620
 ctgaggtgt cctgcaaggc ttctggctac accttacta gatctacgat gcaactggta 1680
 aggcaggccc ctggacaagg tctggaatgg attggatata ttaatcctag cagtgttat 1740
 actaattaca atcagaaatt caaggacagg ttcacaatca gcgcagaca atccaagagc 1800
 acagccttcc tgcagatgga cagcctgagg cccgaggaca ccggcgtcta tttctgtgca 1860
 cggccccaag tccactatga ttacaacggg tttccttact ggggccaagg gactcccgtc 1920
 actgtctcta gcgggtggcg agggctctgg ggtggcggat ccggcgggtg cggatcgggt 1980
 ggcggcggat ctgacatcca gatgaccag tctccttcca ccctgtctgc atctgtagga 2040
 gacagagtca ccatgacttg cagtgccagc tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtatcag 2100
 cagaaaccag ggaagcccc taagagatgg atttatgact catccaaact ggcttctggg 2160
 gtcccatcaa ggttcagcgg cagtggatct gggacagagt tcaactctac catcagcagc 2220
 ctgcagcctg atgattttgc aactatttac tgccaacagt ggagtcgtaa cccaccact 2280
 ttccggcggag ggaccaaggt ggagatcaaa cggctcctcca gctaa 2325

(SEQ ID NO:73)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для анти-CD37 X TSC452:

EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT GYNMNVWRQM PGKGLEWMGN IDPYYGGTTY	60
NRKFKGQVTI SADKSISTAY LQWSSLKASD TAMYYCARSV GPFDSWGQGT LVTVSSGGGG	120
SGGGGSGGGG SGGGGSGGGG SEIVLTQSPA TLSLSPGERA TLSCRAENV YSYLAWYQQK	180
PGQAPRLLIY FAKTLAEGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSE PEDFAVYYCQ HHSNPNWTFG	240
QGTKVEIKSS SEPKSSDKTH TCPPCPAPEA AGAPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV	300
DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKAYACAVS	360
NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS RDELTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN	420
GQPENNYKTT PVLDSGSGF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSL	480
PGQRHNSSL NTGTQMAGHS PNSQVQLVES GGGVVQPGRS LRLSCKASGY TFTRSTMHWV	540
RQAPGQGLEW IGYINPSSAY TNYNQKFKDR FTISADKSKS TAFQMDSLR PEDTGVYFCA	600
RPQVHYDYNG FPYWGQTPV TVSSGGGGSG GGGSGGGSG GGGSDIQMTQ SPSTLSASVG	660
DRVTMTCSAS SSVSYMNWYQ QKPGKAPKRW IYDSSKLAG VPSRFSGSGS GTEFTLTISS	720
LQPDDFATYY CQQWSRNPPT FGGGTKVEIK RSSS	754

(SEQ ID NO:74)**Последовательность ДНК для анти-CD37 X TSC453:**

atggaagcac cagcgcagct tctcttctct ctgctactct ggtccccaga taccaccggt	60
gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggagagtc tctgaagatt	120
tctctgaagg gctccgggta ctcatcact ggctacaata tgaactgggt gcgccagatg	180
cccgggaaag gcctggagtg gatgggcaat attgatcctt attatggtgg tactacctac	240
aaccggaagt tcaagggcca ggtcactatc tccgcccaca agtccatcag caccgcctac	300
ctgcaatgga gcagcctgaa ggcctcggac accgcatgtt attactgtgc acgctcagtc	360
ggccctttcg actcctgggg ccagggcacc ctggctactg tctcctctgg ggggtgaggc	420
tctggtggcg gtggtctctg cggaggtgga tccggtggcg gcggatctgg cgggggtggc	480
tctgaaattg tgttgacaca gtctccagcc accctgtctt tgtctccagg cgaagagcc	540
accctctcct gccgagcaag tgaaaatggt tacagctact tagcctggta ccaacagaaa	600
cctggccagc ctctaggct cctcatctat tttgcaaaa ccttagcaga aggtattcca	660
gccaggttca gtggcagtg ctccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagcctagag	720
cctgaagatt ttgcagttta ttactgtcaa catcattccg ataatccgtg gacattccgc	780
caagggacca aggtggaat caaatcctcg agtgagccca aatcttctga caaaactcac	840
acatgcccac cgtgccagc acctgaagcc gcgggtgcac cgtcagctt cctctcccc	900
ccaaaaacca aggacacct catgatctcc cggaccctg aggtcacatg cgtggtggtg	960
gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggtg	1020
cataatgcc aacaaaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc	1080
gtcctcaccg tctgcacca ggactggctg aatggcaagg catacgcgtg cgcggtctcc	1140
aacaaaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaaagg gcagccccga	1200
gaaccacagc tgtacacct gcccccattc cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc	1260
ctgacctgcc tggtaaaagg cttctatcca agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat	1320
gggcagcccg agaacaacta caagaccagc cctcccgtgc tggactccga cggctccttc	1380

ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca	1440
tgctccgtga tgcgatgagc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctcctgtct	1500
ccgggtcaga ggcacaacaa ttcttccctg aatacaggaa ctcatagtc aggtcattct	1560
ccgaattctc aggtccagct ggtgcaatct gggcctgagg tgaagaagcc tgggtcctcg	1620
gtgaaggtct cctgcaaggc ttctggatat accttcagca gatctacgat gcaactgggtg	1680
cgacaggccc ctggacaagg gcttgagtgg ataggatata ttaatcctag cagtgcctat	1740
actaattaca atcagaaatt caaggacaga gtcacgatta ccgctggaca atccacgagc	1800
acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgaggaca cggcctgtga ttactgtgag	1860
agaccccaag tccactatga ttacaacggg tttccttact ggggccaagg aacctgtgct	1920
accgtctcct caggtggagg cgttccagcc ggaggtggat ccggaggtgg tggctctggt	1980
ggcggcggat ctgacatcca gatgaccag tctccaagca gcctgtctgc aagcgtgggg	2040
gacagggcca ccatgacctg cagtgccagc tcaagtgtaa gttacatgaa ctggtaccag	2100
cagaagccgg gcaagcccc caaagatgg atttatgact catccaaact ggcttctgga	2160
gtccctgtct ccttcagtgg cagtgggtct gggaccgact ataccctcac aatcagcagc	2220
ctgcagcccc aagattctgc cacttattac tgccagcagt ggagtcgtaa ccccccacg	2280
ttcggagggg ggaccaagct acaattaca tcctccagct aa	2322

(SEQ ID NO:75)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для анти-CD37 X TSC453:

EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT GYNNWVRQM PGKGLEWMGN IDPYYGGTTY	60
NRKFKGQVTI SADKSI STAY LQWSSLKASD TAMYYCARSV GPFDSWGQGT LVTVSSGGGG	120
SGGGGSGGGG SGGGGSGGGG SEIVLTQSPA TSLSPGERA TLSCRAENV YSYLAWYQQK	180
FGQAPRLLIY FAKTLAEGIP ARFSGSGSGT DFTLTISLE PEDFAVYQC HSDNPWTFG	240
QGTKVEIKSS SEPKSDKTH TCPPCPAPEA AGAPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV	300
DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKAYACAVS	360
NKALFAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS RDELTKNQS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN	420
GQPENNYKTT PVLDSGDSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS	480
FGQRHNNSSL NTGTQMAGHS PNSQVQLVQS GPEVKKPGSS VKVSCASGY TFSRSTMHWV	540
RQAPGQGLEW IGYINPSSAY TNYNQKFKDR VTITADKSTS TAYMELSSLR SEDTAVYCA	600
RPQVHYDYNG FPYWQGTLV TVSSGGGGSG GGGSGGGSG GGGSDIQTQ SPSLSASVG	660
DRVTMTCSAS SSVSYMNWYQ QKPGKAPKRW IYDSSKLAG VPARFSGSGS GTDYTLTIS	720
LQPEDFATYY CQQWSRNPPT FGGGTKLQIT SSS	753

(SEQ ID NO:76)**Последовательность ДНК для анти-CD37 X TSC454:**

atggaagcac cagcgcagct tctcttctct ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gaggtgcagc tgggtcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggagagtc tctgaagatt	120
tcctgtaagg gctccggtta ctcatctact ggctacaata tgaactgggt gcgccagatg	180
ccccggaaa gctctggagt gatgggcaat attgatcctt attatggtgg tactacctac	240
aaccggaagt tcaaggcca ggtcaactatc tccgccgaca agtccatcag caccgcctac	300
ctgcaatgga gcagcctgaa ggctctggac accgccatgt attactgtgc acgctcagtc	360

ggccctttcg	actcctgggg	ccagggcacc	ctggctactg	tctcctctgg	gggtggaggc	420
tctgggtggcg	gtggctctgg	cggaggtgga	tccgggtggcg	gcggatctgg	cgggggtggc	480
tctgaaattg	tgttgacaca	gtctccagcc	accctgtctt	tgtctccagg	cgaagagacc	540
accctctcct	gccgagcaag	tgaaaatggt	tacagctact	tagcctggta	ccaacagaaa	600
cctggccagg	ctcctaggct	cctcatctat	tttgcaaaaa	ccttagcaga	aggtattcca	660
gccaggttca	gtggcagtgg	ctccgggaca	gacttcactc	tcacatcag	cagcctagag	720
cctgaagatt	ttgcagttta	ttactgtcaa	catcattccg	ataatccgtg	gacattcggc	780
caagggacca	aggtggaat	caaatcctcg	agtgagccca	aatcttctga	caaaactcac	840
acatgccacc	cgtgcccagc	acctgaagcc	gcggttgac	cgtagctctt	cctcttcccc	900
ccaaaaccca	aggacaccct	catgatctcc	cggacccctg	aggtcacatg	cgtgggtggtg	960
gacgtgagcc	acgaagacc	tgaggtcaag	ttcaactggt	acgtggacgg	cgtggaggtg	1020
cataatgcc	agacaaagcc	gcgggaggag	cagtacaaca	gcacgtaccg	tgtggtcagc	1080
gtcctcaccg	tcctgcacca	ggactggctg	aatggcaagg	catacgcgtg	cgcggtctcc	1140
aacaaagccc	ccccagcccc	catcgagaaa	accatctcca	aagccaaagg	gcagccccga	1200
gaaccacag	tgtacaccct	gccccatcc	cgggatgagc	tgaccaagaa	ccaggtcagc	1260
ctgacctgcc	tggtcaaagg	cttctatcca	agcgacatcg	cctgggagtg	ggagagcaat	1320
gggcagccgg	agaacaacta	caagaccacg	cctcccgtgc	tggactccga	cggctccttc	1380
ttcctctaca	gcaagctcac	cgtggacaag	agcagggtgg	agcaggggaa	cgtcttctca	1440
tgctccgtga	tgcatgaggc	tctgcacaac	cactacacgc	agaagagcct	ctccctgtct	1500
ccgggtcaga	ggcacaaca	ttcttccctg	aatacaggaa	ctcagatggc	aggtcattct	1560
ccgaattctc	aggtccagct	ggtgcaatct	gggctgagg	tgaagaagcc	tgggtcctcg	1620
gtgaaggtct	cctgcaaggc	ttctggatat	accttcagca	gatctacgat	gcactgggtg	1680
cgacaggccc	ctggacaagg	gcttgagtgg	ataggataca	ttaatcctag	cagtgtcttat	1740
actaattaca	atcagaaatt	caaggacaga	gtcacgatta	ccgcggacaa	atccacgagc	1800
acagcctaca	tggagctgag	cagcctgaga	tctgaggaca	cggccgtgta	ttactgtgcg	1860
agaccccaag	tccactatga	ttacaacggg	tttccttact	ggggccaagg	aaccctggtc	1920
accgtctcct	caggtggagg	cggttcaggc	ggaggtggat	ccggcgggtg	cggatcgggt	1980
ggcggcggat	ctgacatcca	gatgaccag	tctccttcca	ccctgtctgc	atctgtagga	2040
gacagagtca	ccatgacttg	cagtgccagc	tcaagtgtaa	gttacctgaa	ctggtatcag	2100
cagaaaccag	ggaaagcccc	taagagatgg	atztatgact	catccaaact	ggcttctggg	2160
gtcccatcaa	ggttcagcgg	cagtggatct	gggacagatt	tcactctcac	catcagcagc	2220
ctgcagcctg	atgattttgc	aacttattac	tgccaacagt	ggagtcgtaa	cccacccact	2280
ttcggcggag	ggaccaaggt	ggagatcaaa	cggctcctcca	gctaa		2325

(SEQ ID NO:77)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для анти-CD37 X TSC454:

EVQLVQSGAE	VKKPGESLKI	SCKGSGYSFT	GYNMNWRQM	PGKGLEWMGN	IDPYYGGTTY	60
NRKFKGQVTI	SADKSISTAY	LQWSSLKASD	TAMYICARSV	GPFDSWGQGT	LVTVSSGGGG	120
SGGGSGGGG	SGGGSGGGG	SEIVLTQSPA	TLSLSPGERA	TLSCRASENV	YSYLAWYQQK	180
PGQAPRLLIY	FAKTLAEGIP	ARFSGSGSGT	DFTLTISLSE	PEDFAVYYCQ	HHSNDNPWTFG	240
QGTKVEIKSS	SEPKSSDKTH	TCPPCPAPEA	AGAPSVFLFP	PKPKDTLMIS	RTPEVTCVVV	300
DVSHEDPEVK	FNWYVDGVEV	HNAKTKPREE	QYNSTYRVVS	VLTVLHQDWL	NGKAYACAVS	360
NKALPAPIEK	TISKAKGQPR	EPQVYTLPPS	RDELTKNQVS	LTCLVKGFYP	SDIAVEWESN	420

GQPENNYKTT	PPVLDSGGSF	FLYSKLTVDK	SRWQQGNVFS	CSVMHEALHN	HYTQKSLSL	480
PGQRHNSSL	NTGTQMAGHS	PNSQVQLVQS	GPEVKKPGSS	VKVSCKASGY	TFSRSTMHWV	540
RQAPGQGLEW	IGYINPSSAY	TNYNQKFKDR	VTITADKSTS	TAYMELSSLR	SEDTAVYYCA	600
RPQVHYDYNG	FPYWGQGLV	TVSSGGGGSG	GGSGGGGGSG	GGSDIQMTQ	SPSTLSASVG	660
DRVMTCSAS	SSVSYMNWYQ	QKPGKAPKRW	IYDSSKLAGS	VPSRFSGSGS	GTDFTLTISS	720
LQPDFATYY	CQQWSRNPPT	FGGGTKVEIK	RSSS			754

(SEQ ID NO:78)

Последовательность ДНК для анти-CD37 X TSC455:

atggaagcac	cagcgcagct	tctcttctctc	ctgctactct	ggctcccaga	taccaccggt	60
gaggtgcagc	tgggtgcagtc	tggagcagag	gtgaaaaagc	ccggagagtc	tctgaagatt	120
tcctgtaagg	gctccggtta	ctcattcact	ggctacaata	tgaactgggt	gcgccagatg	180
cccgggaaag	gcttgagtg	gatgggcaat	attgatcctt	attatggtgg	tactacctac	240
aaccggaagt	tcaaggcca	ggtcactatc	tccgccgaca	agtccatcag	caccgcctac	300
ctgcaatgga	gcagcctgaa	ggcctcggac	accgccatgt	attactgtgc	acgctcagtc	360
ggccctttcg	actcctggg	ccagggcacc	ctggctactg	tctcctctgg	gggtggaggc	420
tctgttgcg	gtggctctgg	cggaggtgga	tccggtggcg	gcggatctgg	cgggggtggc	480
tctgaaattg	tgttgacaca	gtctccagcc	accctgtctt	tgtctccagg	cgaagagacc	540
accctctcct	gccgagcaag	tgaaaatggt	tacagctact	tagcctggta	ccaacagaaa	600
cctggccag	ctcctaggt	cctcatctat	tttgcaaaaa	ccttagcaga	aggtattcca	660
gccaggttca	gtggcagtg	ctccgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagcctagag	720
cctgaagatt	ttgcagtta	ttactgtcaa	catcattccg	ataatccgtg	gacattcggc	780
caagggacca	aggtggaat	caaatcctcg	agtgagccca	aatcttctga	caaaactcac	840
acatgcccc	cgtgccccagc	acctgaagcc	gcggtgac	cgtcagtctt	cctcttcccc	900
ccaaaacc	agacaccct	catgatctcc	cggaccctg	aggtcacatg	cgtgggtggtg	960
gacgtgagcc	acgaagacc	tgaggccaag	ttcaactggt	acgtggacgg	cgtggagggtg	1020
cataatgcc	agacaaagcc	gcgggaggag	cagtacaaca	gcacgtaccg	tgtggtcagc	1080
gtcctcaccg	tcctgcacca	ggactggctg	aatggcaagg	catacgcgtg	cgcggtctcc	1140
aacaaagccc	tcagccccc	catcgagaaa	accatctcca	aagccaaagg	gcagccccga	1200
gaaccacag	tgtacaccct	gccccatcc	cgggatgagc	tgaccaagaa	ccaggtcagc	1260
ctgacctgcc	tggtaaaag	cttctatcca	agcgacatcg	ccgtggagtg	ggagagcaat	1320
gggcagccgg	agaacaacta	caagaccacg	cctcccgtgc	tggactccga	cggctccttc	1380
ttcctctaca	gcaagctcac	cgtggacaag	agcagggtggc	agcaggggaa	cgtcttctca	1440
tgctccgtga	tgcattgagc	tctgcacaac	cactacacgc	agaagagcct	ctccctgtct	1500
ccgggtcaga	ggcacaacaa	ttcttccctg	aatacaggaa	ctcagatggc	aggtcattct	1560
ccgaattctc	aggtccagct	ggtgcaatct	gggcctgagg	tgaagaagcc	tgggtcctcg	1620
gtgaaggctc	cctgcaagc	ttctggatat	accttcagca	gatctacgat	gcactgggtg	1680
cgacaggccc	ctggacaagg	gcttgagtgg	ataggataca	ttaatcctag	cagtgtttat	1740
actaattaca	atcagaaatt	caaggacaga	gtcacgatta	ccgcggacaa	atccacgagc	1800
acagcctaca	tggagctgag	cagcctgaga	tctgaggaca	cggccgtgta	ttactgtgcg	1860
agaccccaag	tccactatga	ttacaacggg	tttccttact	ggggccaagg	aaccctggtc	1920
accgtctcct	caggtggagg	cggttcaggc	ggaggtggat	ccggcgggtg	cggatcgggt	1980
ggcggcggat	ctgacatcca	gatgaccacg	tctccttcca	ccctgtctgc	atctgtagga	2040
gacagagtca	ccatgacttg	cagtgccagc	tcaagtgtaa	gttacatgaa	ctggtatcag	2100
cagaaaccag	gaaagcccc	taagagatgg	atttatgact	catccaaact	ggcttctggg	2160

042409

gtcccatcaa ggttcagcgg cagtggatct gggacagagt atactctcac catcagcagc	2220
ctgcagcctg atgattttgc aacttattac tgccaacagt ggagtcgtaa ccccccact	2280
ttcggcggag ggaccaaggt ggagatcaaa cggtcctcca gctaa	2325

(SEQ ID NO:79)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для анти-CD37 X TSC455:

EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT GYNMNWVRQM PGKGLEWMGN IDPYYGGTTY	60
NRKFKGQVTI SADKSISTAY LQWSSLKASD TAMYYCARSV GPFDSWGQGT LVTVSSGGGG	120
SGGGSGGGG SGGGGSGGGG SEIVLTQSPA TSLSPGERA TLSCRAENV YSYLAWYQQK	180
FGQAPRLLIY FAKTLAEGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSE PEDFAVYYCQ HHSNPNWTFG	240
QGTVKVEIKSS SEPKSSDKTH TCPPCPAPEA AGAPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV	300
DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKAYACAVS	360
NKALPAPIEK TISKAKQPR EPQVYTLPPS RDELTKNQS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN	420
GQPENNYKTT PVLDSGDSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLSL	480
PGQRHNSSL NTGTQMGHS PNSQVQLVQS GPEVKKPGSS VKVSCKASGY TFSRSTMHWV	540
RQAPGQGLEW IGYINPSSAY TNYNQKFKDR VTITADKSTS TAYMELSSLR SEDTAVYYCA	600
RPQVHYDYG FPYWGQGLV TVSSGGGGSG GGGSGGGSG GGGSDIQTQ SPSTLSASVG	660
DRVTMTCSAS SSVSYMNWYQ QKPGKAPKRW IYDSSKLAGS VPSRFSGSGS GTEYTLTIS	720
LQPDFDFATYY CQQWSRNPPT FGGGTVKVEIK RSSS	754

(SEQ ID NO:80)

Последовательность ДНК для анти-CD37 X TSC456:

atggaagcac cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccggt	60
gaggtgcagc tgggtcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggagagtc tctgaagatt	120
tctctgtaagg gctccgggta ctcatctact ggctacaata tgaactgggt gcgccagatg	180
cccgggaaag gctcggagtg gatgggcaat attgatcctt attatgggtg tactacctac	240
aaccggaagt tcaaggcca ggtcactatc tccgccgaca agtccatcag caccgcctac	300
ctgcaatgga gcagcctgaa ggctcggac accgccatgt attactgtgc acgctcagtc	360
ggccctttcg actcctgggg ccagggcacc ctggtcactg tctcctctgg ggggtggaggc	420
tctggtgagc gtggctctgg cggaggtgga tccggtggcg gcggatctgg cgggggtggc	480
tctgaaattg tgttgacaca gtctccagcc accctgtctt tgtctccagg cgaagagacc	540
accctctcct gccagcaag tgaatggtt tacagctact tagcctggta ccaacagaaa	600
cctggccagg ctctaggct cctcatctat tttgcaaaa ccttagcaga aggtattcca	660
gccaggttca gtggcagtg ctccgggaca gacttctctc tcaccatcag cagcctagag	720
cctgaagatt ttgagttta ttactgtcaa catcattccg ataatccgtg gacattcggc	780
caagggacca aggtggaat caaatcctcg agtgagccca aatctctga caaaactcac	840
acatccccac cgtgccagc acctgaagcc gcggtgacac cgtcagtcct cctcttcccc	900
ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggaccctg aggtcacatg cgtgggtggtg	960
gacgtgagcc acgaagacc tgaggtaag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg	1020
cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc	1080
gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg catacgcgtg cgcggtctcc	1140
aacaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagccccga	1200
gaaccacagg tgtacaccct gcccccattc cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc	1260

ctgacctgcc tggtaaagg cttctatcca agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat	1320
gggcagcccg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga cggctccttc	1380
ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca	1440
tgtccgtga tgcattgagc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct	1500
ccgggtcaga ggcacaacaa ttcttccctg aatacaggaa ctccagatggc aggtcattct	1560
ccgaattctc aggtccagct ggtgcaatct gggcctgagg tgaagaagcc tgggtcctcg	1620
gtgaaggctc cctgcaaggc ttctggatat accttcagca gatctacgat gcactgggtg	1680
cgacagggcc ctggacaagg gcttgagtgg ataggatata ttaatcctag cagtgccttat	1740
actaattaca atcagaaatt caaggacaga gtcacgatta ccgcccagaa atccacgagc	1800
acagcctaca tggagctgag cagcctgaga tctgaggaca cggccgtgta ttactgtgag	1860
agacccaag tccactatga ttacaacggg tttccttact gggccaagg aaccctggtc	1920
accgtctcct caggtggagg cggttcaggc ggaggtggat ccggcgggtg cggatcgggt	1980
ggcggcggat ctgacatcca gatgaccagc tctccttcca cctgtctgc atctgtagga	2040
gacagagtca ccatgacttg cagtgccagc tcaagtgtaa gttacatgaa ctgggtatcag	2100
cagaaaccag ggaagcccc taagagatgg atttatgact catccaaact ggcttctggg	2160
gtcccatcaa ggttcagcgg cagtggatct gggacagatt atactctcac catcagcagc	2220
ctgcagcctg atgattttgc aacttattac tgccaacagt ggagtcgtaa cccaccact	2280
ttcggcggag ggaccaaggt ggagatcaaa cggctcctca gctaa	2320

(SEQ ID NO:81)

Сигнальная последовательность представлена остатками от 1 до 60

Последовательность зрелого белка для анти-CD37 X TSC456:

EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT GYNMNWVRQM PGKGLEWMGN IDPYYGGTTY	60
NRKFKGQVTI SADKSISTAY LQWSSLKASD TAMYICARSV GPFDSWGQGT LVTVSSGGGG	120
SGGGGSGGGG SGGGGSGGGG SEIVLTQSPA TSLSPGERA TLSCRASENV YSYLAWYQQK	180
PGQAPRLLIY FAKTLAEGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSE PEDFAVYQC HSDNPWTFG	240
QGTKVEIKSS SEPSSDKTH TCPFCAPEA AGAPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV	300
DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKAYACAVS	360
NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS RDELTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN	420
GQPENNYKTT PVLDSDSGF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSMHEALHN HYTQKSLSL	480
FGQRHNSSL NTGTQMGHS PNSQVQLVQS GPEVKKPGSS VKVSKASGY TFSRSTMHWV	540
RQAPGQGLEW IGYINPSSAY TNYNQKFKDR VTITADKSTS TAYMELSSLR SEDTAVYYCA	600
RPQVHYDYNP FPYWGQGLV TVSSGGGGSG GGGSGGGSG GGGSDIQMTQ SPSTLSASVG	660
DRVTMTCSAS SSVSYMNWYQ QKPGKAPKRW IYDSSKLAG VPSRFSGSGS GTDYTLTIS	720
LQPDDEFATYY CQQWSRNPPT FGGGTKVEIK RSSS	754

(SEQ ID NO:82)**Белковая последовательность для TSC455 анти-CD3 scFv**

QVQLVQSGPEVKKPGSSVKVSKASGYTFSRSTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPSSAYTNYNQKFKDRVTITADK
STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPQVHYDYNPFPYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSDIQMTQS
PSTLSASVGDVVTMTCSASSSVSYMNWYQKPGKAPKRWIYDSSKLAGVPSRFSGSGSGTEYTLTISLQPD
FATYYCQQWSRNPPTFGGGTKVEIKRSSS

(SEQ ID NO:83)

Белковая последовательность для TSC456 анти-CD3 scFv

QVQLVQSGPEVKKPGSSVKVSKASGYTFSRSTMHWVRQAPGGLEWIGYINPSSAYTNYNQKFKDRVTITADK
STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPQVHYDYNQFPYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQS
PSTLSASVGDRTMTCSASSSVSYMNWYQQKPKGKAPKRWIYDSSKLAGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQDD
FATYYCQQWSRNPPTFGGGTKVEIKRSS

(SEQ ID NO:84)

Белковая последовательность для DRA222 анти-CD3 scFv

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRSTMHWVRQAPGGLEWIGYINPSSAYTNYNQKFKDRFTISADK
SKSTAFQLQMDSLRPEDTGVYFCARPQVHYDYNQFPYWGQGLPVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSAQDIQMTQSPSS
LSASVGDRTMTCSASSSVSYMNWYQQKPKGKAPKRWIYDSSKLAGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFAT
YYCQQWSRNPPTFGGGTKLQITSSS

(SEQ ID NO:85)

Белковая последовательность для варибельного тяжелого домена TSC455 и TSC456

QVQLVQSGPEVKKPGSSVKVSKASGYTFSRSTMHWVRQAPGGLEWIGYINPSSAYTNYNQKFKDRVTITADK
STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPQVHYDYNQFPYWGQGLVTVSS

(SEQ ID NO:86)

Белковая последовательность для варибельного тяжелого домена DRA222

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRSTMHWVRQAPGGLEWIGYINPSSAYTNYNQKFKDRFTISADK
SKSTAFQLQMDSLRPEDTGVYFCARPQVHYDYNQFPYWGQGLPVTVSS

(SEQ ID NO:87)

Белковая последовательность для варибельного легкого домена TSC455

DIQMTQSPSTLSASVGDRTMTCSASSSVSYMNWYQQKPKGKAPKRWIYDSSKLAGVPSRFSGSGSGTEYTLTI
SSLQDDFATYYCQQWSRNPPTFGGGTKVEIKRS

(SEQ ID NO:88)

Белковая последовательность для варибельного легкого домена TSC456

DIQMTQSPSTLSASVGDRTMTCSASSSVSYMNWYQQKPKGKAPKRWIYDSSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTI
 SSLQPDDEFATYYCQQWSRNPPTFGGGTKVEIKRS

(SEQ ID NO:89)

Белковая последовательность для варибельного легкого домена DRA222

DIQMTQSPSSLSASVGDRTMTCSASSSVSYMNWYQQKPKGKAPKRWIYDSSKLASGVPARFSGSGSGTDYTLTI
 SSLQPEDFATYYCQQWSRNPPTFGGGTKLQITS

(SEQ ID NO:90)

Cris7 и DRA222 VH CDR1 (Kabat) RSTMH **(SEQ ID NO:91)**

Cris7 и DRA222 VH CDR2 (Kabat) YINPSSAYTNYNQKFK **(SEQ ID NO:92)**

Cris7 и DRA222 VH CDR3 (Kabat) QVHYDYNGFPY **(SEQ ID NO:93)**

Cris7 и DRA222 VL CDR1 (Kabat) SASSSVSYMN **(SEQ ID NO:94)**

Cris7 и DRA222 VL CDR2 (Kabat) DSSKLAS **(SEQ ID NO:95)**

Cris7 и DRA222 VL CDR3 (Kabat) QQWSRNPPT **(SEQ ID NO:96)**

Cris7 и DRA222 VH CDR1 (IMGT) GYTFTRST **(SEQ ID NO:199)**

Cris7 и DRA222 VH CDR2 (IMGT) INPSSAYT **(SEQ ID NO:200)**

Cris7 и DRA222 VH CDR3 (IMGT) ARPQVHYDYNGFPY **(SEQ ID NO:201)**

Cris7 и DRA222 VL CDR1 (IMGT) ASSSVSY **(SEQ ID NO:202)**

Cris7 и DRA222 VL CDR2 (IMGT) DSS **(SEQ ID NO:203)**

Cris7 и DRA222 VL CDR3 (IMGT) QQWSRNPPT **(SEQ ID NO:204)**

Последовательность ДНК для ROR133:

atggaagcaccagcgcagcttctctcctcctgctactctggctcccagataaccacgggtgacatccagatgaccagtcctccctcctcctg
 tccgcctccgtggcgaccgggtgaccatcaactgccaggcctcccagtcacatcgactccaacctggcctggtccagcagaagcccggc
 aagcccccaagctgctgatctaccggcctccaacctggcctccggcgtgccctcccgggttctccggctccggctccggcaccgactca
 ccctgaccatctcctccctgcagcccaggacgtggccacctactactgctggcgcgctggggcgcctgtcctaccggacctccttcg
 gcggcggcaccaggtggagatcaagggtggaggcgttcaggcggaggtggatccggcgggtggcggctccggctccggcgggatct
 gaggtgcagctggtggagtccggcggcggcctggtgcagcccggcggctccctgctgctgctgaccgctccggctccgacatca
 acgactacccatctcctgggtgcggcaggccccggcaaggcctggagtgatcggttcatcaactccggcggctccacctggtac
 gcctcctgggtgaaggcgggtcaccatctccgggacgactccaagtccatcgctacctgcagatgaactcctgaagaccgaggac
 accgctgtactattgcggcgggctactccactactacggcactcaacatctggggccagggcaccctggtgaccgtgtcctcga
 gtgagcccaaatctctgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaagccggggtgcaccgtcagctctcctcttccccca

aaaccaaggacacccctcatgatctccggaccctgagggtcacatgctgggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtaagttc
 aactgtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagacaagccgaggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcg
 tcctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggaatacaagtgcgcggctccaacaagccctccagcccccatcgagaaaa
 ccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatccgggatgagctgaccaagaaccagggtcag
 cctgacctgctggtcaaaagcttctatcaagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacaagacca
 cgctcccgtgctgactccgacggctccttctctctacagcaagctaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctctc
 atgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaaagacctctcctgtctccgggtctggtggagcgggtcagcgga
 ggtggctccggcgggtggcggatcgccggctctcaggtccagctgggtggagctggggcggagtggtgacgctggcggtcactga
 ggctgtcctgcaagcttctgctacaccttactagatctacgatgactggtaagcagccccctggacaaggtctggaatgattgga
 tacattaatcctagcagtgcttataactaataatcagaatcaaggacaggtcacaatcagcgcagacaatccaagagcacagcctc
 ctgcagatggacagcctgagccccgagacaccggcgtctatttctgtgcacggcccaagtccactatgattacaacgggttcttactg
 gggccaaggactcccgtactgtctctagcgggtggcggaggtctgggggtggcggatccggaggtgggtgctctgcacaagacatcc
 agatgaccagctccaagcagcctgtctgcaagcgtgggggacagggtcaccatgacctgagtcagtcagctcaagtgaagttacatga
 actggtaccagcagaagccggcaagcccccaaaagatggatattgactcatcaaacctggcttctggagtcctctgctcctcagtg
 cagtggtctggaccgactataccctcacaatcagcagcctgcagccccgaagatttcgcccacttattactgccagcagtgagtcgtaacc
 caccacgttcggaggggggaccaagctacaattacatcctccagctaa

(SEQ ID NO:97)

Последовательность зрелого белка для ROR133:

diquqtspsslsasvdrvtincqasqidsnlawfqkpgkppklliyasnlasgvpsrfsrgsgtdftltlsslqpedvatyyclgg
 vgavsyrtsfgggtkveikggggsgggsgggsgggsevqlvesggglvqpgrslrlsctasgsdindyipiswvrqapkgglewi
 gfnsggstwyaawvkgrftisrddsksiaylqmnsllktdtavyyrcargystyygdfniwgqgtlvtvsssepksdkthtccppcpap
 eaagapsvflfppkpkdtlmsirtpevtcvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngke
 ykavsnkalpapiektiskakqprepqvylppsrldeltnqvslclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvl dsdgsffly
 skltvdksrwqqnfvscsvmhealnhytqkslspgsgggsgggsgggsggsqvlvesgggvvqpgrslrlsckasgytf
 trstmhwwrqapqglewi gyinpsaytnynqkfkdrftisadkskstaflqmdslrpedtgvvyfcarpqvhydyngfpywgqgtp
 vtvsaggsgggsgggsgggsaqdiqmtqspsslsasvdrvtmtcsasssvsymnwyqqkpgkapkrwiydssklasgvparfsg
 sgsdtyltlsslqpedfatyyccqwsmpptfgggtklqitsss

(SEQ ID NO:98)

Последовательность ДНК для ROR193:

atggaagcaccagcgagcttctctctctgactctggctcccagataccaccggtagacatccagatgaccagfccccctctccctg
 tccgctccgtggcgaccgggtgacctcaactgccaggcctcccagtcacatccactggcctggtccagcagaagcccggc
 aagcccccaagctgctgatctaccggcctcaacctggcctccggcgtgcccctccgggttctccggctccggcaccgactca
 cctgacctctctccctcagccccgagacgtggccacctactactgctggcgccgctggcgccggtgtctactccggacctctctg
 gggcgccaccaaggtggagatcaagggtggaggcgggtcaggcggagggtggatccggcgggtggcggctccgggtggcgccggtat
 gagggtgagctgggtgggtccggcggcggcctgggtgagccccggcgggtccctgctggctgtctgaccgcctccggctccgacatca
 acgactaccctctctgggtgcccagggccccggcaaggcctggagtgatccggttcatcaactccggcggctccacctgggtac
 gcctctgggtgaaaggccggtcaccatctcccgggacgactccaagtccatcgcctacctgagatgaactccctgaagaccgaggac
 accgctgctactattgccccgggctactccactactacggcgacttcaacatctggggccaggccacctggtgacctgtctctgga
 gtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcactgaagccggggtgaccgtcagttctctctccccca
 aaaccaaggacacctcatgatctcccggacctgaggtcacatgctgggtgggtgagctgagccacgaagacctgaggtcaagttc
 aactgtagctggagcggcgtggaggtgataatgccaagacaagcccgggaggagcagtagacaacgacgtacctgtgtgctcagc
 tctcaccgtcctgaccagactggctgaatggcaaggaatacaagtgcgctctcaacaagccctccagccccatcgaga
 ccatctccaaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccgggatgagctgaccaagaaccaggtcag
 cctgacctgctgtcaaggcttctatccaagcagatcggctggagtgaggagcaatgggcagccgggagaacaactacaagacca
 cgctccctgctggactccgacgctctctctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaaactctctc
 atgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgagaagagcctctcctgtctccgggttctgggtgaggcgggtcaggcggga
 ggtgctccggcgggtggcggatcggggctcaggtccagctgggtgcaatctggcctgaggtgaagaagcctgggtcctcggtgaa
 ggtctctgcaaggcttctggatatactctcagcagatctacgatgactgggtgacagggccctggacaaggccttgatggtataggat
 acattaatctagcagtgcttataactaattacaatcaaaatcaaggacagagtcacgattaccggacaatccacgagcagcagcctaca
 tggagctgagcagcctgagatctgaggacacggcctgtattactgtcgagaccccaagtccactatgattacaacgggttctctactgg
 gccaaggaacctgtaccgtctctcaggtggaggcgggtcaggcggaggtggatccggcgggtggcggatcgggtggcggcgga
 tctgacatccagatgaccagctctctccacctgtgcatctgtaggagacagagtcacctgactgagtgccagctcaaggtgtaagtt
 acatgaactggtatcagcagaaccagggaagccctaagagatggattatgactcatcaactggcttctgggtcccatcaaggttc
 agcggcagtggtatctgggacagagtatactctcaccatcagcagcctgcagcctgatgatttgaacttattactgccaacagtgagctgt
 aaccacccacttctggcggaggaccagggtggagatcaaacgggtcctccagctaa

(SEQ ID NO:99)

Последовательность зрелого белка для ROR193:

Diqmtqspsslsasvdrvtnincqasqidsnlawfqkpgkppklliyrasnlasgvpsrfsrgsgtdflltisslqpedvatyyclgg
 vgavsyrtsfgggtkveikgggsgggsgggsggggsevlvesggglvqprslrlsctasgsdindypiswvrqapkgglewi
 gfnsggstwyaswvkgrftisrdsksiaylqmnslktdtavyyycargystyygdfniwgqgtlvtvssepksdkthtppcpap
 eaagapsvflfppkpkdltlmsrtpevtcvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngke
 ykcavsnkalpapiektiskakgqprepqvylppsrdeltnqvslclvkgfypsdiavewesngqpennyktpvldsdgsffly
 skltvdksrwqgnvfscsvmhealthnhytqkslslspgsgggsgggsgggsggsgsqvqlvqsgpevkkpgssvkvscasgy

tfsrstmhvwrqapqglewi gyinpsaytnynqkfkdrvitadkststaimelsslrsedtavyycarpqvhdyngfpywgqg
tlvtvssggsgggsgggsgggsgggsgggdiqmtqspstlsasvdrvmtcsasssvsymnwyqqkpgkapkrwiydssklasgvp
srfsgsgsteyltisslqpddfatyycqwsrnpptfgggkveikrssa

(SEQ ID NO:100)

Последовательность ДНК для ROR134:

atggaagcaccagcgcagcttctctctctgactctggctcccagataaccaccggtgacatccagatgaccagtccccctctccctg
tccgcctccgtggcgaccgggtgacctcaactgccagcctcccagtcactccaacctggcctgggtccagcagaagcccggc
aagcccccaagctgctgatctaccggcctccaacctggcctcggcgtgccctcccgggtctccggctccggctccggcaccgactca
ccctgacctctctccctgcagcccaggacgtggccacctactactgcctggcgggcgtggcgccgtgtcctaccggacctcttcg
gcgcgcgaccacaaggtggagatcaaggggtggagcggttcaggcggaggtggatccggcggtggcctccggctccggcgcgatct
gaggtgacagctgggtggatccggcgggcctgggtgacccggcggtcctctggcgtgtcctgcaccctccggctccgacatca
acgactacccatctctgggtgcgacggccccggcaaggcctggagtggatcggcttcatcaactccggcggtccacctgggtac
gccactcgggtgaagggccgggtcaccatctcccggcactcctccaagaacacctgtacctgcagatgaactccctggcgccggagggac
accgccgtgacttctgcgccggggtactccacctactcggcgacttcaacatctggggccagggcacctgggtgacctgtcctcga
gtgagcccaaatctctgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcactgaagccggggtgcaaccgtcagttctcttcccccca
aaacccaagacacctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgggtggagcgtgagccacgaagacctgaggtcaagttc
aactggtactggtgacggcgtggaggtgataatgccaaagacaagccggggagggagcagtaacaacagcacgtaccgtgtggtcagcg
tctcaccgtctgcaccaggactgggtgaaaggcaaggaatacaagtcggcgtctccaacaaagccctcccagcccccatcagaaaa
ccatctcacaagcacaagggcagccccgagaaccacaggtgtaccctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcag
cctgacctccctgtcaaaaggcttctatccaagcagatcggctggagtgaggagcaatgggcaagcgggagaacaatacagaacca
cgctcccgtgctgactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaactcttctc
atgctcctgatgatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcctgtctcgggttctgggtgagcgggtcagcgga
ggtggctccggcgggtggcgatcggcggctcaggtcagctgggtggagctggggcgggagtggtgagcctggcggtcactga
ggctgtcctcaaggcttctggctacaccttactagatctacgatgactgggtaaggcagggccccggacaaggtctggaatggattgga
tacattaactcagcaggtcttataataataatcagaataatcaaggacaggttcaaatcagcagacaaatccaagagcacagccttc
ctgagatggacagcctgagggccaggacaccggcgtctattctgtgcacggccccaaagtcactatgattacaacgggttcttactg
ggccaaggactcccgtactgtctctagcgggtggcgagggtctgggggtggcgatccggaggtggctctgcacaagacatcc
agatgaccagctccaagcagcctgtctgcaagcgtgggggacagggtcaccatgacctgcagtgccagctcaagtgtaaagttacatga
actggtaccagcagaagccggcacaagccccaaaagatggatfatgactcatcaaaactggcttctggagtccctgctcgtcagtg
cagtggtctgggaccgactataacctcacaatcagcagcctcagccccgaagatttcgccacttattactcccagcagtggtgagtcgtaacc
caccacgttcggaggggggaccgaagctacaaattacatcctccagctaa

(SEQ ID NO:101)

Последовательность зрелого белка для ROR134:

Diqmtqspsslsasvdrvntincqasqidsnlawfqkpgkppklliyrasnlasgvpsrfsfgsgsgtdfltlsslpqpedvatyyclgg
 vgaivsyrtsfgggtkveikgggsgggsgggsgggsgggsevqlvesggglvqpggslrlsctasgsdindyipiswvrqapgkglewi
 gfnsggstwyadvskgrfisirhsskntlylqmnsraedtavycargystyygdfniwgqgtlvtvssepkssdkthtccppape
 aagapsvflfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvtlvhqdwlngkey
 kcavsnkalpapiektiskakgpprepqvytlpprsdeltnqvstlclvkgfypsdiavewesngqpennyktppvldsdgsfflys
 kltvdkrsrwqqgnvfscsvmhcalhnhytqkslslspgsgggsgggsgggsgggsggsqgsvqlvesgggvvqpgsrslrskasgyftt
 rstmhwwvrqapggglewiyinpsayntynqkfkdrftisadkskstaflqmdslrpedtgvyfcarpqvhydyngfpywgqgtp
 vtvsaggsgggsgggsgggsgaadiqmtqspsslsasvdrvntmtcsasssvsymnwyqqkpgkapkrwiydssklasgvparfsg
 sgsdtyltlsslpqpedfatyyccqwsmpptfgggtklqitsss

(SEQ ID NO:102)**Последовательность ДНК для ROR189:**

atggaagcaccagcgcagcttctctctctgactctggctcccagataccaccggtagacatcagatgaccagctccccctctccctg
 tccgcctccgtggcgaccgggtgaccatcaactgccaggcctcccagtcactcccaactggcctgggtccagcagaagcccggc
 aagcccccaagctgctgatctaccggcctccaactggcctccggcgtgccctcccggttctccggctccggctccggcaccgactca
 cctgaccatctctctctgcagcccaggacgtggccactactactgctggcgccgctggcgccgtgtcctaccggacctcctcg
 gcggcgccaccaagggtggagatcaagggtggagggcgttcaggcggaggtggatccggcggtggcgctccgggtggcgcgatct
 gaggtgcagctgggtggagtcggcgccggcctgggtgagcccggcgtccctgctgctgctgaccgctccggctccgacatca
 acgactacccatctctctgggtgcgccagggccccggcaaggcctggagtgatcggctcatcaactccggcgctccacctggtac
 gccgactcgggtgaaggccgggtcaccatctcccggcactcctcaagaacacctgtacctgagatgaactccctgcccggcggaggac
 accgctgctactctgcccgggctactccactactacggcgacttcaacatctggggccaggccacctgggtgacctgtcctcga
 gtgagcccaaatctctgacaaaactcacatgcccaccgtgccagcactgaagccgggggtgaccgtcagcttctcttcccccca
 aaaccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgctggtggtggagtgagccacgaagacctgaggtcaagttc
 aactgtactcgtggcggcgtggaggtgcataatgccaagacaagccggcgaggagcagtaacaacagcacgtaccgtgtgtcagcg
 tctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggaatacaagtgcgcggtctccaacaaagccctcccaagccccatcgagaaaa
 ccatctcaaaagcgaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccggtgagctgaccaagaaccagggtcag
 cctgacctgcctgtaaggctctatcaagcgacatgccgtggagtgaggagcaatggcgagccggagaacaactacaagacca
 cgcctcccgtgctggactccgacggctccttctctacagcaagctaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctctc
 atgctccgtgatgatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctcctccctgtctccgggtctggtggagggcgttcaggcgga
 ggtggctccggcgggtggcggatcggcggtctcaggtccagctggtgcaatctggcctgaggtgaagaagcctgggtcctcgggtgaa
 ggtctcctgcaaggctctgatactcagcagatctacgatgactgggtgcgacaggccccctggacaaggcttgagtgataggtg

acattaatcctagcagtgcttataactaataatcaagaattcaaggacagagtcacgattaccgcgacaatccacgagcacagcctaca
 tggagctgagcagcctgagatctgaggacacggcctgtattactgtcgcgagacccaagtccaatgattacaacgggttccttactgg
 ggccaaggaaacctggcaccgtctctcaggtggagggcgggtcaggcggaggtggatccggcgggtggcggatcgggtggcggcggga
 tctgacatccagatgaccagctctctccaccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatgacttgagtgccagctcaagttaagt
 acatgaactggtatcagcagaaaccagggaagcccctaagagatggattatgactcatcaaactggcttctgggtcccatcaagggtc
 agcggcagtggtatgggacagattatactctaccatcagcagcctgcagcctgatgatttgcacttatactccaacagtgaggctgt
 aaccaccactttcggcgaggaccagggtggagatcaaacggctcctccagctaa

(SEQ ID NO:103)

Последовательность зрелого белка для ROR189:

diquatqpsllsasvgrvtincqasqidsnlawfqqkpgkppklliyasnlasgvpsrfsrgsgtdftltisslqpdevatyyclgg
 vgvayrtyfsggkveikggsgsgsgsgsgsgsgggsevlvesggglvqpggslrlsctasgsdindyiswvrqapkgglewi
 gfnsggstwyadsvkgrftisrhsskntlylqmnsraedtavycargystyygdfniwgggtlvtvsssepksdkthtppcpape
 aagapsvflfppkpkdtlmsrtpevtcvvdvshdepvkfnwyvdgvevhnaktkpreeqnstryrvsvltvlhqdwlngkey
 kcavsnkalpapiektiskakqpprepqvylppsrdeltnqyslclvkgfypsdiavewesngqpennyktppldsdgsfflys
 kltvdksrwqqgnvfscsvmhealhhnytqkslslspgsgsgsgsgsgsgsgsgspgsqvqlvqsgpevkkpssvkvscasgyt
 frstmhwwrqpaggglewiyinpsaytnynqkfkdrvtitadkstaymellssrsedtavyycarpqhvydyngfpywgggt
 lvtvssggsgsgsgsgsgsgsgsgsgdiqmtqpsstlsasvgrvtmtcsassvsymnwyqqkpgkapkrwiydsklasgvps
 rfsrgsgtdytltisslqpddfatyycqwsmpptfsggkveikrsss

(SEQ ID NO:104)

Последовательность ДНК для ROR154:

atggaagcaccagcgcagcttctctcctcctgctactctggctcccagataaccaccggatgacatccagatgaccagctccccctcctcctg
 tccgctcctggcgcagcgggtgacctcaactgccaggcctcccagctccatcactccaacctggcctggtccagcagaaagccggc
 aagcccccaagctgctgatctaccggcctcaacctggcctccggcgtgccctcccgttctcggctccggctccggcaccgactca
 ccctgacctctcctcctgcagcccaggacgtggccacctactactgcctggcggcgtggcggcctgtcctaccggacctcctcctg
 gcggcggcaccgaaggtggagatcaagggtggagggcgggtcaggcggaggtggatccggcgggtggcggctccgggtggcgggatct
 gagggtcagctgggtggagtcggcggcggcctggtcagccggcggcctcctgctcctgcaccgcctccggctccgacatca
 acgactaccatcacctgggtgcggcagccccggcaaggcctggagtgatcgcttcatcaactccggcggctccacctggtac
 gcctcctgggtgaagggccgggtcaccatctccgggacgactccaagtccatcgcctacctgcagatgaactcctgaagaccgaggac
 accgccgtgactattgcggcgggctactccacctactaccgggactcaacatctggggccaggccacctggtgacctgtcctcga
 gtgagcccaaatcttctgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaagccgggtgcaccgtcagttctctctccccca
 aaaccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgcgtgggtggagcgtgagccacgaagacctgaggtcaagttc
 aactggtacgtgacggcgtggaggtgcataatccaagacaagccggcggaggagcagtagacaacagcacgtaccgtggtcagcg

tcctaccgctctgcaccaggactggctgaatggcaaggaatacaagtgcgcggtctccaacaagccctcccagccccatcgagaaaa
 ccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcag
 cctgacctgcctggtcaaaggcttctatccaagcgacatgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacaagacca
 cgctcccgtgctggactccgacggctccttctctctacagcaagtcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctctc
 atgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggttctggtggaggcgggtcaggcggga
 ggtggctccggcgggtggcggatcggggctctcaggtccagctgggtggagctggggggcggagtggtgagcctggcggtcactga
 ggctgtcctgcaaggcttctggctacaccttactagatctacgatcactgggtaaggcagggccctggacaaggtctggaatggattgga
 tacattaatcctagcagtgcttataactaataatcagaattcaaggacaggtcacaatcagcgcagacaaatccaagagcacagccttc
 ctgcagatggacagcctgagccccgagacaccggcgtctatttctgtgcacggcccccaagtcactatgattacaacgggttcttactg
 gggccaaggactcccgtcactgtcttagcgggtggcggagggtctgggggtggcggatccggaggtgggtcctgcacaagacatcc
 agatgaccagctccaagcagcctgtctgcaagcgtgggggacagggtcacatgacctgcagtgccagctcaagtgtaagtacatga
 actggtaccagcagaagccggcaagccccaaagatggattatgactcatcaaactggcttctggagtcctctcctcctcagtggtg
 cagtggtctgggaccgactataccctcacaatcagcagcctgcagccccgaagatttcccacttactgccagcagtgaggatcgaacc
 caccacgttcggaggggggaccaagctacaataatcatctccagctaa

(SEQ ID NO:105)

Последовательность зрелого белка для ROR154:

diquqtspsslsasvgrvtincqasqsidnlawfqkpgkppklliyrasnlasgvpsrfsrgsgtdflltisslqpedvatyyclgg
 vgavsyrtsfggtkveikggsgggsgggsgggsgggseqlvesggglvqpgsrslrscasgsdindyptwvrqapkgglewi
 gfnsggstwyaswvkrftisrddsksiaylqmnslktdtavvyycargystyyrdfnwqgdlvtvsssepkssdkthtppcpap
 eaagapsvflfpkpkdltlmisrtpvctvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqnystyrvvslvtlqhwdwngke
 ykcavsnkalpapiektiskakgqprepqvylppsrdeltnqvslclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvl dsdgsffly
 skltvdksrwqqgnvfscsvmhcalhnytkslslspgsgggsgggsgggsggsgvqlvesgggvvqpgsrslrscasgytf
 trstmhvwvrqapqglewi gyinpsayntynqkfdrtisadkskstaflqmdslrpedtgvfyfcarpqvhydyngfpywqgtp
 vtvsaggsgggsgggsgggsgaqqdiquqtspsslsasvgrvtmtcsasssvsymnwyqqkpgkapkrwydssklasgvparfsg
 sgsgetdyltisslqpedfatyyccqwsrmpptfgggtklqitsss

(SEQ ID NO:106)

Последовательность ДНК для ROR185:

atggaagcaccagcgcagcttctctctctctgactctggctcccagataccaccggtgacatccagatgaccagctccccctcctcctg
 tccgctccgtggcgcaccgggtgacctcaactgccaggcctcccagtcactccaactggcctgggtccagcagaagcccggc
 aagcccccaagctgctgatctaccggcctccaactggcctccggcgtgccctcccgggtctccgctccggcctccggcaccgactca
 ccctgacctctcctcctgcagcccaggacgtggccacctactactgcctggcggcgtggcgccgtgtcctaccggacctcctcg
 gcggcggcaccgaaggtggagatcaagggtggagcgggtcaggcggaggtggatccggcgggtggcggtccgggtggcgggatct

gaggtgcagctggtggagtcggcgccgctggtgcagccggccgctcctgcggctgctcaccgcctccggctccgacatca
 acgactaccccatcctgggtgcggcagggccccggcaaggcctggagtggtcggcttcatcaactccggcggctccacctggtac
 gcctcctgggtgaaggccggtcaccatctccgggacgactccaagtccatcgcctacctgcagatgaactccctgaagaccgaggac
 accgccgtgactattgcggcggtactccacctactaccgggacttcaacatctggggccagggcacctggtgacctgtcctcga
 gtgagcccaaatctctgacaaaactcacatgcccaccgtgccagcacctgaagccgagggtgcaccgtcagttctcttccccca
 aaaccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgcgtgggtgggtgacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttc
 aactgtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagcaaaagccggggaggagcagtacaacagcacgtaccgtggtgacgcg
 tcctcaccgtcctgcaccaggactgggtgaatggcaaggcaatacaagtcgctgggtctcaacaagccctcccaacccccatcaga
 ccatctccaaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccgggatgagctgaccaagaaccaggtcag
 cctgacctgctgtaaaaggcttctatccaagcgacatcgggtggagtgaggagcaatgggcaaccggagaacaactacaagacca
 cgctcccgtgctggactccgacggctccttctctctacagcaagctaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaactctctc
 atgctcctgtagatgaggtctgcacaaccactacacgagaaagcctctcctgtctcgggttctggtggagcgggtcaggcggga
 ggtggctccggcggtggcggatcggcgctcaggtcagctggtgcaatctggcctgaggtgaagaagcctgggtcctcgggtgaa
 ggtctcctgcaaggctctggatatacctcagcagatctacgatgactgggtgcgacagggccccggacaaggctgagtgataggat
 acattaatcctagcagtgcttactaataatcaagaattcaaggacagagtcacgattaccgggacaaatccacgagcacagcctaca
 tggagctgagcagcctgagatctgaggacacggcctgtattactgfcgagaccccaagtccactatgattacaacgggttcttactgg
 ggccaaggaaacctgtaccgtctcctcaggtggagcgggtcagcggaggtggatccggcgggtggcggatcgggtggcggcggga
 tctgacatccagatgaccagctctcctccaccctgtctgcatctgtagagacagagtcaccatgactgagtgccagctcaagtgtaagtt
 acatgaactggtatcagagaaacagggaaagcccctaagagatggattatgactatccaaactggcttctgggtcccatcaagggtc
 agcggcagtggtatcgggacagattactctaccatcagcagcctgcagcctgatgattttgcaacttactgccaacagtgaggtcgt
 aaccacccactttcggcgaggggaccaaggtggagatcaaacgggtcctccagctaa

(SEQ ID NO:107)

Последовательность зрелого белка для ROR185:

diquatqspsslsasvdrvntincqasqidsnlawfqkpkppklliyrasnlasgvpsrfsrgsgsgtdflti sslqpedvatyyclgg
 vgavsyrtsfgggtkveikgggsgggsgggsgggsgggsevqlvesggglvqpgrslrlsctasgsdindy pitwvrqapgkglewi
 gfnsggstwyaswvkrftisrddsksiaylqmnslktdtavyycargystyrdfniwgqtlvtvsssepksdkthtccppcpap
 eaagapsvflfppkpkdtlmsirtpevtcvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngke
 ykcavsnkalpapiektiskakgqprepvytlppsrdeltnqvsltelvkgfypsdiawesngqpennykttpvl dsdgsffly
 skltvdksrwqqnfvscsvmhealnhytqslslspgsgggsgggsgggsggspgsvqlvqsgpevkkpgssvkvscasgy
 tfsrstmhvvrqapqglewiyinpsayntynqkfkdrvtitadkfstaymelsslr sedtavyycarpqvhydyngfpywgqg
 tlvtvssgggsgggsgggsgggsgggsdiqmtqspstlsasvdrvntmcsasssvsymnwyqqkpkpkprwiydssklasgvp
 srfsgsgsgtdytlitisslqpddfatyycqqwsrnpptfgggtkveikrsss

(SEQ ID NO:108)

Последовательность ДНК для ROR179:

atggaagcaccagcgcagcttctctcctcctgctactctggctccagataccaccgggacatccagatgaccagtcctccctcctccctg
tccgctccgtgggcgaccgggtgaccatcaactgccagcctcccagtcctcactccaactggcctggtccagcagaagcccgcc
aagcccccaagctgctgatctaccggcctccaactggcctccggcgtccctcccgttctccggctccggctccggcaccgactca
ccctgacctctcctccctgcagcccaggacgtggccactactactgctggggcgcgtgggcgcccgtgctctactggacctcttgg
cggcggcaccgaaggtggagatcaagggtggagcgggtcaggcggaggtggatccggcgggtggcggctccgggtggcgggactg
aggtgacgtggtggagtcggcggcggcctggtgcaagccggcggctccctggcgtgctctgacccctccggctccgacatcaac
gactacccatcacctgggtggcagccccggcaaggcctggagtgatggcttcatcaactccggcggctccacctggtacgc
ctctgggtgaaggcgggttccatctcccgggacgactccaagtcctcgcctacctgcagatgaactccctgaagaccgaggacac
cgccgtgctattgcccggggtactccactactaccgggactcaacatctggggcaggccacctggtgacctgctctcagtg
gagcccaaatcttgcacaaaactcacacatgccaccctgcccagcacctgaagccggcgggtgacccgtcagcttctcttccccca
aaccgaaggacacctcatgctctcccggaccctgaggtcacatcgctgggtggagctgagccacgaagacctgaggtcaagttca
actggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaagccggggaggagcagtaaacagcacgtaccgtggtgacgct
cctaccgtcctgaccaggactggcgtgaatggcaaggaatacaagtgccgggttccaacaaagccctcccagccccatcgaaaa
ccatctccaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgacacccctccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcag
cctgacctgctgtaaaaggcttctatccaagcagatcgccgtggagtgaggagcaatgggagccggagaacaactacaagacca
cgctcccgtgctggactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaaacttctc
atgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacagcaagagcctctcctgctcctgggttctggtggaggcgggtcaggcgg
ggtggctccggcgggtggcggatccggcgtctcagctcagctgggtgagctggggcgggagtggtgagcagcctggcggcgtcactga
ggctgctcgaagccttctgctacaccttactagatctacgatgactgggtaaggcagcccctggacaaggtctggaatgattgga
tacattaactcagctgcttataataatcaaaatcaagacaggttcaaatcagcgcagacaatccaagacacagccttc
ctgagatggacagcctgagggccaggacaccggcgtctattctgtgcacggcccaagtcactatgattacaaggggttcttactg
ggcacaaggactcccgtcactgtctctagcgggtggcggaggtctgggggtggcggatccggaggtggtggctctgcacaagacatcc
agatgacccagctccaagcagcctgtctgcaagcgtgggggacagggtcaccatgacctgagtcaccagctcaagtgtaagttacatga
actggtaccagcagaagccggcgaagcccccaaaagatggattatgactcatcaaacctggcttctggagtcctgctcctcagtg
cagtggtctgggaccgactataccctacaatcagcagcctgcagcccgaagatttcgcccacttactgcccagcagtgaggctgtaacc
caccacgttcggaggggggaccaagctacaatcatcctccagctaa

(SEQ ID NO:109)**Последовательность зрелого белка для ROR179:**

diquatqspsslsasvdrvntincqasqidsnlawfqqkpgkppklliyasnlasgvpsrfsrgsgtdfilitisslqpedvatyyclgg
vgavsywtsfggkveikgggsgggsgggsgggsevqlvesggglvqprslrlsctasgsdindyipitwvrqapgkglewi
gfinsggstwyaswvkgftrftrddsksiaylqmnsllktdtavyyargystyyrdfniwgqgtlvtssepksdkthtppcpap
eaagapsvflfppkpdtlmistrpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngke
ykcavsnkalpapiektiskakgqprepqvylppsrdeltnqvslclvkgfypsdiavewesngqpennyktpvldsdgffly
skltvdkrwrqqgnvfscsvmhhealnhytqkslslspgsgggsgggsgggspgsqvqlvesgggvvqprslrlsckasgytf
trstmhwwrqpaggglewiyinpssaytnynqfkdrftisadkskstaflqmdslrpedtgvfcarpqvhydyngfpywgqgtp
vtvssgggsgggsgggsgggsaqdiqmtqspsslsasvdrvntmcsasssvsymnwyqqkpgkapkrwiydssklasgvparfsg
sgsgtdytlitisslqpedfatyyccqwsmpptfgggtklqitss

(SEQ ID NO:110)

Последовательность ДНК для ROR186:

atggaagcaccagcgagcttctctctctctgactctggctccagataaccaccggtgacatccagatgaccagtcctccctctccctg
 tccgctcctggtggcgaccgggtgaccatcaactgccaggcctccagtcacgactccaacctggcctggttccagcagaagcccggc
 aagcccccaagctgctgatctaccggcctcaacctggcctccggcgtgcctcccggttctccggctccggctccggcaccgacttca
 ccctgaccatctcctcctgcagcccaggagctggccacctactactgctggggcggcgtggcgccgtgctactaggacctcttgg
 cggcggcaccgaaggtggagatcaagggtggagggcgttcaggcggaggtggatccggcgggtggcggctccgggtggcggcggatctg
 aggtgcagctggtggagtcggcgccggcctggtgagcccggcggctccctgctgctctgacccgctccggctccgacatcaac
 gactacccatcacctgggtgcggcagggccccggcaaggcctggagtgatcggttcatcaactccggcggctccacctggtacgc
 ctctgggtgaaggcgggttaccatctcccgggacgactccaagtccatcgctacctgcagatgaactccctgaagaccaggagacac
 cgccgtgtactattgcccggggtactccactactaccgggactcaacatctggggccaggcaccctggtgaccgtgtctctcagt
 gagcccaatcttctgacaaaactcacacatgccaccgtgccaccgacctgaagccggcgggtgacccgtcagcttctcttccccca
 aacccaaggacacctcatgatctcccggaccctgaggtcacatcgctggtggtagctgagccacgaagacctgaggtcaagtca
 actggtacgtggcggcgtggaggtgcataatgccaagacaagccgggaggagcagtagacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgt
 cctaccgtcctgaccaggactgctgaatggcaaggaatacagtgccgggtctcaacaaagcctcccagccccatcgagaaaa
 ccatctccaaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccgggatgagctgaccaagaaccaggtcag
 cctgacctgcctggtcaaggcttctatccaagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggagcgggagaacaactacaagacca
 cgctccctgctggtgactccgacggctccttctctctacagcaagctaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgttctc
 atgctccgtgatgatgagctctgcacaacctacacgcagaagagcctctccctgtctccgggttctggtggagcgggtcagcggga
 ggtggtccggcgggtggcggatcgggctctcaggtccagctggtgcaatctggcctgaggtgagaagaagcctgggtcctcgggtgaa
 ggtctctgcaaggcttctgatactcctcagcagatctacgatgactgggtgcgacagccctggacaaggcctgagtgatgagat
 acataatctagcagtgcttataactaattacaatcagaattcaaggacagagtcacgattaccgggacaaaatccacgagcagcctaca
 tggagctgagcagcctgagatctgaggacacggcgtgtattactgtcgagaccccaagtccaatgattacaacgggttcttactgg
 ggccaaggaaacctggtcaccgtctcctcaggtggagcgggttcaggcggaggtggatccggcgggtggcggatcgggtggcggcggga
 tctgacatccagatgaccagctctctccacctgtctgcatctgtagagacagagtcaccatgacttgcagtgccagctcaagtgaagt
 acatgaactggtatcagcagaaccagggaagcccctaagagatggattatgactatccaaactggcttctgggtcccatcaagggtc
 agcggcagtggtatcgggacagattactctcaccatcagcagcctgcagcctgatgattttgcaacttattctccaacagtggtgctg
 aaccacccacttccggcggagggaccaagggtggagatcaaacggctcctccagctaa

(SEQ ID NO:111)**Последовательность зрелого белка для ROR186:**

diquatqspsslsvsagdrvtincqasqidsnlawfqqkpgkppklliyrasnlasgvpsrfsrgsgtdftlisslqpedvatyyclgg
 vgvsvywtstfggkveikggggsgggsgggsggggsevqlvesggglvqpprslrlsctasgsdindyvitvwrqapgkglewi
 gfinsggstwyaswvkrftisrddsksiaylqmnsllktdtavyycargystyrdfniwgqgtlvtssepkssdkthtccppcpap
 eaagapsvflfppkpkdtlmsrtpevtcvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngke
 ykavsnkalpapiektiskakgqprepqvylppsrdeltnqvslclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvltdsdgsffly

skltvdksrwqqgnvfscsvmhcalhnhytqkslslspsgggsgggsgggsgggspgsqvlvqsgpevkkpgssvkvscasgy
 ffrstmhwwvrqapggglewiyinpssaytnynqkfkdrvtitadkststaimelsslrsedtavyycarpqvhdyngfpywggg
 tlvtvssggsgggsgggsgggsgggsgggdiqmtqspstlsasvgrvmtcsasssvsymnwyqqkpkapkrwiydssklasgvp
 srfsgsgsgtdytlitisslqpddfatyycqwrnpptfgggkveikrsss

(SEQ ID NO:112)

Последовательность ДНК для ROR181:

atggaagcaccagcgcagcttctctctctgctactctggctcccagataaccaccggatgacatccagatgaccagctcccctctccctg
 tccgctccgtggcgaccgggtgaccatcaactgccaggcctcccagtcacgactccaactggcctggtccagcagaagcccggc
 aagcccccaagctgctgatctaccggcctccaactggcctccggcgtgccctcccgttctccggctccggcaccgacttca
 ccttgaccatctctccctgcagcccaggacgtggccactactactgctggcggcgtggcgccgtgtcctaccggacctctctg
 gggcgccaccaaggtggagatcaagggtggaggcgttcaggcggagggtgatccggcgggtggcggctccgggtggcgggatct
 gagggtcagctggtggagtcggcgccggcctggtgagcccggcggctccctgctgctgctgaccgtgctggcaccgacatca
 acgactacccatctctgggtggcaggccccggcaaggcctggagtgatggcttcatcaactccggcggctccactggtac
 gccgactcggggaagggcgggtcaccatctcccggcactcctccaagaacacctgtacctgagatgaactccctgcccggcggaggac
 accgctgctactctgcccggggctactccactactaccggacttcaacatctggggccaggcaccctggtgaccgtgtctctg
 gtgagcccaaatcttctgacaaaactcacatgcccaccgtcccagcacctgaagccgggtgaccgtcagcttctcttccccca
 aaaccaagacaccctcatgatctccggaccctgaggtcatatgctggtggagctgagccacgaagacctgaggtcaagttc
 aactggtacgtgacggcgtggagggtgataatgcaagacaaagccggggaggagcagtaaacagcagctaccgtgtgtcagcg
 tctcaccgtctgaccaggactggctgaatggcaaggaaataaagtgccgggttccaacaaagcctcccagccccatcgagaaaa
 ccactcctcaagcgaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcag
 cctgacctgctggtcaaggcttctatccaagcgacatcggcgtggagtgaggagcaatggcgaccggagaacaactacaagacca
 cgctccctgctgactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgttctc
 atgtccgtgatgatgaggtctgcacaaccactacagcagaagacctctccctgtctccgggtctggtggaggcgggtcaggcgga
 ggtgctccggcgggtggcggatcggggctctcaggctcaggtggtgagctggggcggagtggtgacgctggcggtcactga
 ggctgtcctgcaaggtcttggtacaccttactagatctacgatgactggtaaggcagccccctggacaaggtctggaatgattgga
 tacattaatcctagcagtgcttataactaataatcagaattcaaggacaggttcaaatcagcgcagacaaaatccaagagcacagcctc
 ctgagatggacagcctgagggccaggacaccggctctatttctgtgcacggccccaaagtcactatgattacaacgggttctactg
 gggccaaggactcccgtcactgtctctagcgggtggcggaggtctgggggtggcggatccggaggtggtgctctgcacaagacatcc
 agatgaccagcttccaagcagcctgtctgcaagcgtgggggacaggggtcacatgacctgagtgccagctcaagtgtaatgattatga
 actggtaccagcagaagccggcgaagccccaaaagatggattatgactcatcaactggcttctggagtcctgctcgtcgtcagtg
 cagtggtctgggaccgactataccctcacaatcagcagcctgacggcgaagatttccacttattactccagcagtggtgagtcgtaacc
 caccacgttcggagggggaccaagctacaattacatctccagctaa

(SEQ ID NO:113)

Последовательность зрелого белка для ROR181:

diqmtqspsslsasvdrvtincqasqidsnlawfqkpgkppklliyrasnlasgvpsrfsrgsgsgtdftltisslqpedvatyyclgg
 vgavsyrtsfgggtkveikgggsgggsgggsgggsgggsevqlvesggglvqpggsrlsctvsdtdindyiswvrqapgkglewi
 gfnsggstwyadvkgrftisrhsskntlylqmnsbraedtavycargystyrdfniwgqgtlvtvssepksdkthtccppcape
 aagapsvflfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngkey
 kcavsnkalpapiektiskakgpprepqvylppsrdeltnqvsltelvkgfypsdiavewesngqpennyktpppvltdsdgsfflys
 kltvdkrwrqqgnvfscsvmhcalhnhytqkslslspgsgggsgggsgggsgggspgsqvqlvesgggvvqpgsrslrscasgyftf
 rstmhvwrqapggglewiyinpsaytnynqkfkdrftisadkskstaflqmdslrpedtgvyfcarpqvhydyngfpywgqgtp
 vtvsrgggsgggsgggsgggsaqqdiqmtqspsslsasvdrvtmtcsasssvsymnwyqqkpgkapkrwydssklasgvparfsg
 sgsdtyltisslqpedfatyycqqwsmppfsgggtklqitsss

(SEQ ID NO:114)**Последовательность ДНК для ROR191:**

atggaagcaccagcgcagcttctctctctctactctgctccacatgacaccggtagacatccagatgaccagctccccctctccctg
 tccgctccgtggcgaccggtagacatcaactgccagcctcccagtcacatgactccaacctggcctggtccagcagaagccccggc
 aagcccccaagctgctgatctaccggcctccaacctggcctccggcgtgccctcccggctctccgctccggctccggcaccgactca
 ccctgacatctctccctcagccccgaggacgtggccacactactgctcctggcgccgtggcgccgtgctcactaccggacctccttcg
 gccggcgaccacaaggtggagatcaagggtggaggcgttcaggcggaggtggatccggcggtggcgctccggtggcgccgatct
 gaggctgacgtggtggagctccggcgccggcctggtgcagccccggcgtccctgcggctgctcctgaccgtgctccggcaccgatca
 acgactaccctatctctgggtgcccagggccccggcaaggcctggagtgatccgcttcatcaactccggcgtccacctgtagc
 gccgactcggtagggggcgttaccatctcccggcactcctcaagaacacctgtactgcagatgaactcctgcggcgaggagc
 accgctgtagctctgcggcggtactccactactaccggactcaacatctggggccaggccacctggtgaccgtgctcctcga
 gtgagcccaaatctctgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcactgaaagccgggtgaccgtcagcttctctctccccca
 aaaccaaggacacctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgctggtggtggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttc
 aactgtagctggagggcgtggaggtgcataatgccaaagacaagccggggaggagcagtacaacagcacgtaccgtggtgtagcg
 tctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggaatacaagtgccggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaa
 ccatctcaaaagcaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcag
 cctgacctgctgaaaggcttctatcaagcgacatgcccgtggagtgaggagcaatgggcaagccggagaacaactacaagacca
 cgctcccgctggactccgacggctccttctctctacagcaagctaccgtgacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctctc
 atgctcctgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctcctcctgctccgggtctggtggaggcgttcaggcggg
 ggtggctccggcggtggcgatccgggctcaggtccagctggtgcaatctggcctgaggtgaagaagcctgggtcctcgggtgaa
 ggtctcctgcaaggctctgatactcagcagatctacgatgcactgggtgacagggccccctggacaaggctgagtgatagatg
 acattaatctagcagcttataactaatacaatcagaatcaaggacagagtcacgattaccggcaaatccacgagcacagcctaca
 tggagctgagcagcctgagatctgaggacacggcctgtattactgtgcgagacccaagtccactatgattacaacgggttctcttactgg

ggccaaggaacctggtcaccgtctcctcaggtggagggcggtcagggcgaggtggatccggcgggtggcggatcgggtggcggcggga
tctgacatccagatgaccagctctcctccaccctgtctgcatctgttaggagacagagtcaccatgactgacgtgccagctcaagttaagt
acatgaactggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaagagatggatttatgactcatcaactggcttctggggtccatcaagggtc
agcggcagtggtatcgggacagattactctccatcagcagcctgcagcctgatgattttgcaacttattactccaacagtgaggctgt
aacccaccactttcggcggaggaccaaggtggagatcaaacggtcctccagctaa

(SEQ ID NO:115)

Последовательность зрелого белка для ROR191:

dqmtqpssslsvsdrvntincasqsidnlawfqqkpgkppklliyasnlasgvpsrfsghsgtdflitisslqpdevatyyclgg
vgavysrfsfgggtkveikgggsgggsgggsggggsevlvesggglvppggslrlsctvsgtdindyiswvrqapgkglewi
gfinsggstwyadsvkgrftisrhsskntlylqmnslraedtavycargystyrdfniwgqgtlvtssepkssdkthtccppape
aagapsvflfppkpkdtlmisrtepcvvdvshdepvkfnvyvdgvevhnaktkpreeqnstryrvsvltvlhqdwlngky
kcavsnkalpapiektiskakgpprepqvylppsdeltknqvslclvkgfypsdiavewesngqpennyktpplvdsdgsffly
kltvdksrwqqgnvfscsvmhcalhnhytqkslslspggsgggsgggsgggsggsqvlvqsgpevkkpssvkvscasgyt
fsrstmhwwvrqapggglewiynpssaytnynqkfkdrvtitadkststaimelsslrsedtavyycarpvhydyngfpywqgt
lvtvssggsgggsgggsgggsgggsgggdiqmtqpsstlsvsdrvntmcsasssvsymnwyqqkpgkapkriwidssklasgvps
rfsghsgtdytlitisslqpdfatyycqwsmpptfgggtkveikrsss

(SEQ ID NO:116)

Последовательность ДНК для ROR182:

atggaagcaccagcgagcttctctctcctgactctgctccagataccaccggtgacatccagatgaccagctccccctcctccctg
tccgctcctggtggcgaccgggtgaccatcaactgccagcctccagtcacactccaactggcctggtccagcagaagcccggc
cagcccccaagctgctgatctaccggcctccaactggcctccggcgtgcccaccgggttctccgctccgctccggcaccgacttc
accctgaccatctcctcctggagccgagcagctggccacactactgctggcggcgtggcgcctgtcctaccggacctcctc
ggcggcggcaccaggtggagatcaagggtggaggcgggtcaggcggaggtggatccggcgggtggcggctccggtggcggcggatc
tgaggtgacgtggtggagtcggcgccggcctggtgagcccggcggctccctgctgctgacccgctccgctccgacatca
acgactacccatcactgggtgcgagcccccggcaggcctggagtggtcggctcatcaactccggcggctccacctggtac
gcctcctgggtgaggcggttaccatctcccggcagcactccaagtccatcgcctacctgagatgaactccctgaagaccgagc
accgctgtgactattgcggcgggctactccactactaccggacttcaacatctggggcaggcaccctggtgacctgtcctcga
gtgagcccaaatcttgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcactgaagccgggtgacacctgactctccttccccca
aaaccaaggacacctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgctggtggtggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagtc
aactggtacgtggcggcgtggaggtgcataatccaagacaagcccgggaggagcagtagacaacagcacgtaccgtggtcagcg
tcctcaccgtcctgaccagcagctggtgaatggcaaggaatacaagtgcgcggtctccaacaagccctccagccccatcgagaaa

ccatctccaaagccaaggcgagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcag
 cctgacctgcctgtgcaaaaggcttctatccaagcagatcgccgtggagtgaggagagcaatggcgagccggagaactacaagacca
 cgctcccgtgctgactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgttctc
 atgctccgtgatgatgaggtctgcacaaccactacacgagaagagcctctcctgtctcgggttctggggagcgggttcaggcgga
 ggtggctccggcggtggcgatcgccggctctcaggtccagctggtggagctggggcgagtggtgagcctggcggtcactga
 ggctgtcctgaaggcttctggctacaccttactagatctacgatgactgggtaaggcagccctggacaaggtctggaatggattgga
 tacattaatcctagcagtgcttataaataaatacagaatcaaggacaggttcaaatcagcgcagacaatcaagagcacagccttc
 ctgagatggacagcctgaggccgaggacaccggcgtctattctgtgcacggcccaagtcactatgattacaacgggttcttactg
 gggccaagggactcccgtactgtctctagcgggtggcgagggtctgggggtggcgatccggaggtggtgctctgcacaagacatcc
 agatgaccagctccaagcagcctgtctgcaagcgtgggggacaggggtcaccatgacctgagtgccagctcaagtgtaaftacatga
 actggtaccagcagaagccgggcaaggcccaaaagatggattatgactcatcaaaactggcttctggagtcctgctcctcagtggtg
 cagtggtctgggaccgactatacctcacaatcagcagcctgcagcccgaagatttcgacctattactgccagcagtgaggctgtaacc
 caccacgttcggaggggggaccaagctacaataatcatcctccagctaa

(SEQ ID NO:117)

Последовательность зрелого белка для ROR182:

diqmtqspsslsasvdrvntincqasqidsnlawfqkpgppklliyasnlasgvpdrfsgsgsgtdftlissleaedvatyyclgg
 vgavsyrtsfgggtkveikggsgsgsgsgsgsgsgsgsevqlvesggglvqpgslrlsctasgsdindyipitwvrqapqglewi
 gfnsggstwyaswvkgrftisrddsksiaylqmnlktedtavyycargystyrdfniwgqglvtvssepksdkthtccpppap
 eaagapsvflfppkpkdtlmsirtpvctvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngke
 ykcavsnkalpapiektiskakgqprepvytlppsrdeltnqvslctlvkgfypsdiavewesngqpennykttppvl dsdgsffly
 skltvdksrwqqnfvscsvmhealhnhytqkslslspgsgsgsgsgsgsgsgspgsqvqlvesgggvvqpgslrlsckasgytf
 trstmhwvrqapqglewiyinpsaytnynqkfkdrftisadkskstaflqmdslrpedtgyfcarpqvhydyngfpywgqgtp
 vtvsaggsgsgsgsgsgsgsaqdiqmtqspsslsasvdrvntmcsassvsymnwyyqkpgkapkriydskslasgvparfsg
 sgsdtyltlisslqpedfatyycqwsmpptfgggtklqitsss

(SEQ ID NO:118)

Последовательность ДНК для ROR192:

atggaagcaccagcagcagcttctctctctctactctggctcccagataaccaccggtgacatccagatgacctcctccctcctcctg
 tccgctcctggtggcgaccgggtgacctcaactgcaggcctcccagtcacatcactccaacctggcctggtccagcagaagccccggc
 cagcccccaagctgctgatctaccggcctccaactgcctccgctgcccggcgtcccggcgttctccggctccgctccggcaccgacttc
 accctgacctctcctcctggagccgagacgtggccacactactcctggcggcgtggcgccgtgtctaccggacctcttc
 ggcggcggcaccaaggtggagatcaagggtggagcgggttcaggcggaggtggatccggcgggtggcggctccggtggcggcgatc

tgagggtgcagctggaggagtcggcgcgccctggcgagcccgccgctccctgcggctgctcctgcaccgcctccggctccgacatca
 acgactacccccatcacctgggtgaggcagggccccggccaggccctggagtgagctggcttcatcaactccggcgctccacctggtac
 gcctcctgggtgaaggccgggtcaccatctccgggacgactccaagtcacatcgcctacctgcagatgaactccctgaagaccgaggac
 accgccgtgactattgccccgggctactccactactaccgggacttcaacatctggggccaggccacacctggtgacctgtcctcga
 gtgagcccaaatctctgacaaaactcacatgcccaccgtgccagcacctgaagccgagggtgcaccgtcagttctcttcccccca
 aaaccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgctgggtgggtgacgtgagccacgaagacctgaggtaagttc
 aactggtacgtggacggcgtggagggtgataatgccaagacaaaaccggggaggagcagtaacaacacacgtaccgtggtgacgcg
 tctcaccgtcctgcaccaggactgggtgaatggcaaggaatacaagtcgctgggtctcaacaagccctcccaacccccatcgagaaaa
 ccctcctcaaaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccgggatgagctgaccaagaaccagggtcag
 cctgacctgctgtaaaaggcttctatcaagcgacatcgggtggagtgaggagcaatgggcaaccggagaacaactacaagacca
 cgctcccgtgctggactccgacggctccttctctacagcaagctaccgtggacaagagcagggtggcagcaggggaaccttctc
 atgctcctgtagcatgaggtctgcacaaccactacacgagaaagcctctcctgtctccgggtctggaggcgggtcaggcggga
 ggtggctccggcggtggcgatcggcgctcaggtcagctggtgcaatctggcgctgaggtaagaagcctgggtcctcggtgaa
 ggtctcctgcaaggctcttgatataccttcagcagatctacgatgactgggtgacagggccccctggacaaggctgagtgataggat
 acattaatcctagcagtgcttataactaatacaatgaaatcaaggacagagtcacgattaccgggacaaatccacgagcacagcctaca
 tggagctgagcagcctgagatctgaggacacggcctgtattactgtgagaccccaagtccactatgattacaacgggttcttactgg
 ggccaaggaacctggtaccgtctcctcaggtggagggcgggtcagcggagggtgatccggcgggtggcggatcgggtggcgcgga
 tctgacatccagatgaccagctctcctccaccctgtctgcatctgtagagacagagtcaccatgacttgcagtgccagctcaagtgaagtt
 acatgaactggtatcagagaaaccagggaaagcccctaagagatggattatgactatccaaactggcttctgggtcccatcaagggtc
 agcggcagtggtatcgggacagattatactcaccatcagcagcctgcagcctgatgattttgcaacttattactccaacagtgaggctgt
 aaccacccactttcggcgaggaggaccaagggtggagatcaaacgggtcctccagctaa

(SEQ ID NO:119)

Последовательность зрелого белка для ROR192:

diqmtqspsslsasvdrvntincqasqidsnlawfqqkpgppklliyrasnlasgvpdrfsgsgsgtdfltiisleaedvatyyclgg
 vgavsyrtfsgggtkveikggsgsgggsgggsggggsevglvesggglvqpgrlrlsctasgsdindyipitwvrqapqglewi
 gfnsggstwyaswvkrftisrddsksiaylqmnslktedtavyycargystyyrdfniwgqglvtvsssepksdkthtccpppap
 eaagapsvflfppkpdltlmsirtpevtcvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngke
 ykcavsnkalpapiektiskakgqprepvytlppsrldeltnqvsitclvkgfypsdiawewesngqpennykttppvl dsdgsffly
 skltvdksrwqqnfvscsvmhahlhnytqkslslspgsgggsgggsgggsggsqvlvqsgpevkkpgssvkvscasgy
 tfsrstmhvvrqapqglewiyinpsayntynqkfkdrvtitadkfstaymelslrsedtavyycarpqvhydyngfpywgqg
 tlvtvssggsgggsgggsgggsggsdiqmtqspstlsasvdrvntmcsasssvsymnwyqqkpgkapkrwiydssklasgvp
 srfsgsgsgtdytltiisslqpddfatyycqqwsrnpptfsgggtkveikrsss

(SEQ ID NO:120)

Химерное биспецифическое анти-CD123 (VLVH) x анти-CD3 (TSC456) scFv-Fc-scFv

Dimmsqspsslavsvgekftmtckssqslffgstqknylawyqqkpgqspklliywastresgvprftgsgsgtdflaiissvmped
lavuyccqyynypwtfgggkgleikggggsgggsgggsgggsgggsvqlqesgpglvkpsqslstcvsdysitsgyywnwirqfp
gnklewmgyisydgsnnynpslknrisitrdtsknqfflklssvttedtatyycsrgegfyfswgqgtfltvsssepksdkthtccppc
apeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpvtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlng
keykcavsnkalpapiektiskakgqprepvytlppsrdeltnqvstclvkgfypsdiavewesngqpennyktpvldsdgsff
lyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgsgggsgggsgggsgggsggsqvlvqsgpevkkpgssvkvscas
gytfrstmhwwrqpaggqlewigyinpssaytnynqkfkdrvtitadkfstaymelslrsedtavyycarpqvyhydyngfpywg
qgtlvtvssggsgggsgggsgggsgggsgggdiqmtqspstlsasvdrvtmtcsassvsymnwyqqkpgkapkrwiydssklas
vpsrfsqsgsgtdytlitisslpddfatyycqwsrnpptfgggkveikrsss (SEQ ID NO:197)

Химерное биспецифическое анти-CD123 (VHVL) x анти-CD3 (TSC456) scFv-Fc-scFv

Vqlqesgpglvkpsqslstcvsdysitsgyywnwirqfpgnklewmgyisydgsnnynpslknrisitrdtsknqfflklssvttedt
atyycsrgegfyfswgqgtfltvssggsgggsgggsgggsgggsgggdimmsqspsslavsvgekftmtckssqslffgstqknylaw
yqqkpgqspklliywastresgvprftgsgsgtdflaiissvmpedlavuyccqyynypwtfgggkgleiksssepksdkthtccppc
papeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpvtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwln
gkeykcavsnkalpapiektiskakgqprepvytlppsrdeltnqvstclvkgfypsdiavewesngqpennyktpvldsdgs
fflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgsgggsgggsgggsgggsgggsggsqvlvqsgpevkkpgssvkvscas
sgytfrstmhwwrqpaggqlewigyinpssaytnynqkfkdrvtitadkfstaymelslrsedtavyycarpqvyhydyngfpyw
gggtlvtvssggsgggsgggsgggsgggsgggdiqmtqspstlsasvdrvtmtcsassvsymnwyqqkpgkapkrwiydssklas
vpsrfsqsgsgtdytlitisslpddfatyycqwsrnpptfgggkveikrsss (SEQ ID NO:198)

Последовательность ДНК для TSC471:

atggaagcaccagcgcagcttctctctctgctactctggctcccagataaccaccggatgatccagatgaccagctccatccgccatg
tctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttccggggcagtaagagcattagcaaatatttagcctggttcagcagaaacaggaggaa
agttcctaagctccgcatcattctggatctactttgcaatcagggtcccatctcggttcagtgagcagtgatctggacagaattactctca
ccatcagcagcctcagcctgaagattttgcaacttattactgtcaacagcatattgaatacccgtggacgttcggccaaggaccagggtg
gaaatcaaacgaggtggcggagggtctgggggtggcggatccggaggtggtggtctcaggtccagctggatcagctctgggctgagg
tgaagaagcctgggctcagtgagggtctctgcaaggctctggatacacattcactgactactacatgactgggtgcgacagccct
ggacaaggcctgagtgatgggatatttaaccttataatgattatactagatacgacacagaagttccaggcagagtcaccatgaccagg
gacacgtctatcagcagacgctacatggagctgagcagcctgagatctgacgacacggcgtgtattactgtgcaagatcggatggttacta
cgtatctatggactactgggctcaaggaaaccacagtcaccgtctctcagtgagcccaaatctctgacaaaactcacacatcccaccgt
gccagcacctgaagccgcgggtgcaaccgtcagctctctctcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggt
cacatgctgtggtggagctgagccaggaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaga
caaaagccgcccggaggagcagtaaacagcagctaccgtgtgacagctcctaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaagga

atacaagtgccggtctccaacaagcctcccagccccatcgagaaaaccatctccaagccaaaaggcagccccgagaaccacag
 gftacacccctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggctcagcctgacctgcctgggtcaaaggcttctccaagcgacatcg
 ccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttctctaca
 gcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgatgaggctctgcacaaccactacacg
 agaagagcctctccctgtctccgggtccggagggtgcggtccggagggtgcgggtcagagggtggggctctccttcacaggtgacg
 ctggtgacgtctggctgaggtgaaaaagcctggctccagcgtgaagggtcctgcaaggccaagcgatacacctttagccggctccaca
 tgcattgggtgaggcaggtcctggacaggcctggagtggatcggtacatcaaccagcagcgtataccaactacaatcagaagtt
 taaggaccgggtgacctaccgcccataagtccaccagcaccgctacatggagctgtccagcctgaggagcagggataccgctgt
 actattgccccggccccaggtccattacgactacaacggcttccctattggggccagggaaccctggtgacctgctccagcgggtggcg
 gttggcagcggcgccggcggctctggcggagggtggcagcggcgagggggctccgacattcagatgacccagtcctccaccctgt
 ccgtagcgtggcgatcgggtgacctgacctgacgcgcagcagctcctgtctcatgaactggtaccagcagaagcccggcaag
 gctccaagaggtgatttacgactccagaagctggcctctggtgtccccagcaggttctctgtagcggcagcggcacagactaccc
 ctgacctctctccctgacgccgacgatttcccactactattgccagcagtggtcccggaatcccctacctttggcggcgccacaa
 ggtggagatcaagaggagctaa (SEQ ID NO:205)

Последовательность зрелого белка для TSC471:

Diqmtqspmsamsasvdrvtitcrasksiskylawfqkpkpklrihsgstlqsgvpsrfsfgsgstefltisslqpedfatyycqhh
 ieypwtfqgktveikrgggsgggsgggsgvqlvqsgaevkkgasvksckasgyftdyymhwvrqapgglewmgfy
 npyndytryaqkfqgrvtmtrdtsistaymelslrddtavyycarsdydamdywgqgtvtvsssepksdkthtppcpape
 aagapsvflfppkpkdltmisrtpvctcvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqnystyrvsvltvlhqdwlngkey
 kcavsnkalpapiektiskakqpprepqvytlppsdeltknqvsltclvkgfypsdiavewesngppennyktpvldsdgsfflys
 kltvdkrsrwqqnfvscsvmhealhnhytqkslslspsgggsgggsgggsgpsvqlvqsgpevkkpgssvksckasgyft
 srstmhwwrqapgglewiyinpsaytnynqkfkdrvtitadkststymelslrddtavyycarpqvhydyngfpywgqgtl
 vtvsaggsgggsgggsgggsgggsgdiqmtqspstlsasvdrvtmtcsassvsymnwyqqkpgkapkrwydssklasgvpsr
 fsgsgsgtdyftlisslqpddfatyycqwsrnpptfgggtkveikrs (SEQ ID NO:206)

Последовательность ДНК для ROR243:

atgaggctcccctcagctgctgttctcctgctgctctggctcccacaccagcagacatccagatgacccagtcctcctctccct
 gtccgctagcgtggcgataggggtgacctcaactgccagcctcccagtcattgactccaatctggcctggtccagcagaagcccgg
 acagcccccaagctgctgattacaggcctcaactgcttccggcgtgctgacaggttctccggatccggcagcggcaccgactc
 accctgacctctcctcctggaggccgagatgtccacactactactgtctggcggcgtgggcgtgtgagctatcgacctctctg
 cggcgccaccagaaggtggagatcaaggcgccgagcagcggcggcggcagcggcgaggctccggcgccggcgccg
 agcaggtgacgctggtgaaagcggaggaggcctggtgacgctgaaaggtccctgaggctgtctgcacagccagcggctccgac
 atcaacgactaccccatcacctgggtgaggcaggtcctggcaggcctggaatggatcggtttatcaacagcggcgagcagcctg

gtatgcttcctgggtgaaggccggtcaccattagcaggagcactc caagtcattgcctacctgcagatgaactcctgaagaccgag
gacaccgccgtgtactactgcgccaggggtacagcacctattaccggactttaacatctggggccaggcactggtcacccgtctct
cgagtgcagccaaatctctgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaagccgcgggtgcaccgtcagctctctctccc
ccaaaaccaaggacacctcatgatctcccggacctgaggtcactgcgtggtggtgagcgtgagccacgaagacctgaggtca
agttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagcgcgggagggagcagtagacaacagcacgtacctgtggtc
agcgtctcaccgtcctgaccaggactggctgaatggcaaggaatacaagtgcgcggtctcaacaagccctccagcccccatcga
gaaaacctctcaaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccgggatgagctgaccaagaaccag
gtcagcctgacctgcctggtcaaggctctatccaagcgacatgccctggagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactaaa
gaccagcctcccgtctggactccgacgctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaact
cttctcatgctccgtgatgatgaggtctgcaacaactacacgcagaagacccctcctctcctcgggtccggaggaggggtcag
gtggggaggttctgcgcggggggaagccctcacaggtgcaactggtgcagagtgaccgggttaaaaaccagggctcctccgt
aaggttagctgcaaacctctgctacacatttccaggagtagaactgactgggtgagggcaggtcctggacaggactcaggtgatcg
ggtatatcaacctctagcgcctatacaatacaaaaagttaaggaccgagttaccattaccgctgacaaatccaccagtagacgtta
tatggagctgtcatctcttagtccgaggacactgctgtttactgctcctcaggtcactatgactataatggtttccctactgggt
cagggaaacctggtgactgtctcttctggcggtggagcagcgggtgggggtgggtctggaggcgggtggcagtgccggcggaggctc
atattcagatgactcagctcctagcactctcagcggcagcgtggggatcgtgtgacaatgactgctccgtagcagtagtcttcat
gaattggtatcagcagaagccgggaaagcacctaagcgtggatctatgactctccaagctggcaagtggttccctcaggttctctg
gctcaggttctgtagtactatacttactatctcctccaccggatgattcgctacctattattgtcagcagtgaggccgtaaccac
ccacttccggagcgggtaccaagtgagatcaagaggtcatga (SEQ ID NO:207)

Последовательность зрелого белка для ROR243:

Diqmtqspsslsasvdrvntincasqsidsnlawfqqkpgqppklliyrasnlasgvprdfsgsgsgtdftltissleaedvatyyc
vgavsyrtsfgggtkveikggggsgggsgggsgggsevqlvesggglvqpgrslrlsctasgsdindyvitwvrqapqglewi
gfinsggstwyaswvkgftrtdsksiaylqmnsllktdtavyyccargystyrdfniwgqgtlvtssepksdkthtccpppap
eaagapsvflfppkpkdtlmsirtpevtcvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngke
ykcavsnkalpapiektiskakgqprepvytlppsrdeitknqslclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvl dsdgsffly
skltvdksrwqqgnvfscsvmhahlhnytkslslspsgggggsgggsgggsgpsqvqlvqsgpevkkpgssvkvscasgyt
fsrstmhvvrqapqglewiyinpsaytnynqkfkdrvtitadkststymelsslrsedtavyycarpqvhdyngfpywqgt
lvtvssggggsgggsgggsgggsgggdiqmtqspstlsasvdrvntmcsassvsymnwyqqkpgkapkrwiydssklasgvps
rfsrgsgsgtdytltisslqpddfatyycqwsrnpptfgggtkveikrs (SEQ ID NO:208)

Последовательность ДНК для TSC266:

atggaagcaccagcagcttctctctctctactctggctcccagataaccaccggtgataccagatgaccagctctccatccgcatg
tctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactgcccggcgagtagagcattagcaaatattagcctggtttcagcagaaccagggaa
agtctcaagctccgcatcattctggatctactftgcaatcaggggtcccatctcgggtcagtgaggcagtgatctgggacagaatttactctca

ccatcagcagcctgcagcctgaagatttgcacttactgtcaacagcatattgaataccgtggacgttcggccaaggaccaaggtg
gaaatcaaacgaggtggcggagggtctgggggtggcggatccggaggtggtgctctcaggtccagctggtacagctctggggctgagg
tgaagaagcctggggctcagtgaggctctctcaaggctctggatacacattactgactactacatgactgggtgcgacagggccct
ggacaagggtgagtggtggtatfttaacttataatgattatactagatacgacagaagtccagggcagagtcacatgaccagg
gacagctctatcagcacagcctatggagctgagcagcctgagatctgacgacagccgctgtattactgtgcaagatcggatggtfacta
cgtgctatggactctgggtcaaggaaccacagtcaccgtctctcagtgagccaaatctctgacaaaactcacatgccaccct
gcccagcactgaagccgggtgcaccgtcagctctctctcccccaaaccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggt
cacatcgctggtggtggcagctgagccagaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaa
caagccggcgggagggcagtaaacagcagctaccgtggtgacgctctcaccgtcctgaccaggactggctgaatggcaaggc
gtacgctgctgcgggtctcaaaaagccctccagccccatcgagaaaaccatctcaaaagccaaaggcagccccgagaaccacag
gtgtacaccctgccccatcccgggatgagtgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaaggcttatcaagcgacatcg
cgtggagtgaggagcaatgggcagccgggagaacaatacaagaccagcctcccgtgctggactcgcagggctctctctctaca
gcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacagc
agaagacctctccctgtctccgggtcagaggcacaacaattctccctgaatacaggaactcagatggcaggtcattctccgaattctcagg
tcagctggtgagctctggggcggagtggtgagcagcctggcggctactgaggctgtcctgcaaggctctggctacaccttactagatct
acgatgactgggtaaggcagccctggacaaggtctggaatggattggatacattaatcctagcagtgcttataactaataatcagaaa
ttcaaggacaggttcaaatcagcgcagacaatcaagagcagcctctcctgagatggacagcctgagggccgaggacaccggcgt
ctattctgtgacggcccccaagtcactatgattacaacgggttctctactggggccaagggactcccgtcactgtctctagcgggtggcgg
agggtctgggggtggcggatccggaggtggtgctctgcacaagacatccagatgaccagctcctcaagcagcctgtctgcaagcgtgg
gggacagggctaccatgacctgacgtgccagctcaagttaagttacatgaactggtaccagcagaagccgggcaaggcccccaaaaga
tggattatgactcatcaaacctgctctggagctccctgctcctcagtgagcagtggtctgggaccgactataacctcacaatcagcagc
ctgagccccgaagatttccacttattactgccagcagtgagctgtaaccacccacgttcggagggggaccaagctacaataatcat
cctccagctaa (SEQ ID NO:209)

Белковая последовательность для TSC266:

Diqmtqspmsasvdrvtitcrasksiskylawfqkpgkvpklrihsgstlqsgvpsrfsrgsgstefltlsslpedfatyycqhq
ieypwtfqggtkveikrgggsgggsgggsgvqlvqsgaevkpkpagsvksckasgyftdyymhwvrqapggglewmgyf
npyndytryaqkfgvrvtmrtdtsistaymelsslrddtavyyarsdgydamdywgqgtvtvsssepkssdkthtccpape
aagapsvflfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvlthqdwlngkay
acavsnkalpapiektiskakqprepvytlppsrdeltnqvslctlvkgyfypsdiavewesngqpennyktpvldsdgsfflys
kltvdksrwqqnfvscsvmhealhnhytqkslslspgqrhnnslntgtqmaghspnsqvqlvesgggvvqgrslrlsckasgytf
trstmhvwvrqapggglewiyinpsaytnynqkfkdrftisadkskstaflqmdslrpedtgvycarpqvhydyngfpywgqgt
vtvssggggsgggsgggsgaqqdiqmtqspsslsasvdrvtmtcsasssvsymnwyqqkpkapkrwiydssklasgvparfsg
sgsgtdytlsslpedfatyycqhwsmppftgggtklqitsss (SEQ ID NO:210)

Последовательность ДНК для ROR206:

atggaagcaccagcgagcttctctctcctgactctggctcccagataccaccggtagacatccagatgaccagtcctccctcctccctg
tccgcctccgtggcgaccgggtgaccatcaactgccaggcctcccagtcacatgactccaacctggcctggtccagcagaagccccggc
aagcccccaagctgctgatctaccggcctccaacctggcctccggcgtgccctcccgggtctccggctccggctccggcaccgacttca
ccctgaccatctcctccctgagccccgaggactggccactactactgctggcgccgtggcgccgtgctcctaccggacctccttg
ggcgccgaccacaaggtggagatcaagggtggagcgggtcaggcggaggtggatccggcgggtggcggctccgggtggcgccggtatct
gaggtgagctgggtgagtcggcgccggcctggtgagccccggcggctccctggcgtgctcctgaccgcctccggctccgacatca
acgactacccatcactgggtgagcagccccggcaaggcctggagtgatcggcttcatcaactccggcggctccacctggatc
gcctcctgggtgaaggccgggtcaccatctcccgggacgactccaagtcctcctcctgacatgaactcctgaagaccgaggac
accgccgtgactattgccccggggtactccactactaccgggacttcaacatctggggccaggccacctggtgacctgtcctcga
gtgagcccaaatcttctgacaaaactcacatgcccaccgtgccagcactgaagccgggtgacaccgtcagcttctcttccccca
aaaccaagacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgctggtggtgagctgagccagaaagacctgaggtcaagttc
aactggtacgtggagcggcgtggaggtgcataatgcaagacaagcccgggagagcagtagacaacgacgtaccgtggtgacg
tctcaccgtcctgaccagactgggtgaatggcaaggaatacaagtcgctgggtctcaacaaagccctccagccccatcgagaaaa
ccatctcaaaagcaagggcagccccgagaaccaggtgtacacctgccccatccgggatgagctgaccaagaaccaggtcag
cctgacctgcctgggtcaaggcttctatcaagcagacatcgggtggagtgagcaatgggagcgggagaacaactacaagacca
cgctccctgctggactccgagcgtccttctctctacagcaagctaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctc
atgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcctgtctccgggtctggtggaggcgggtcaggcgg
ggtggctccggcgggtggcggatcggcggtctcaggtccagctgggtgagctcggggcggagtggtgagcctggcggtcactga
ggctgtcctgcaaggcttctggtacaccttactagatctacgatcactgggtaaggcagccccctggacaaggtctggaatggattga
tacattaatcctgagctgctataataatcagaatcaaggacaggttcacaatcagcgcagacaaatcaagagcacagccttc
ctgagatggacagcctgagccccgagacaccggcgtctatctgtgacagcccccaagtcactatgattacaacgggttcttactg
gggccaagggactcccgtcactgtctctagcgggtggcggaggtctgggggtggcgatccggaggtggtggtctgcacaagacatcc
agatgaccagcttccaagcagcctgtctgcaagcgtgggggacagggtcacatgacctgagtcagctcaagtgtaaattacatga
actggtaccagcagaagccggcaagcccccaaaagatggattatgactcatcaactggcttctggagtcctctcctcagtggtg
cagtggtctgggaccactatacctcacaatcagcagcctgagccccgaagatttcccacttactgcccagctggagtcgtaacc
caccacgttcggagggggaccagaactacaattacatcctccagc (SEQ ID NO:211)

Белковая последовательность для ROR206:

MEAPAQLLFLLLLWLPD TTGDIQMTQSPSSLSASVGD RVTINCQASQSIDSNLAWFQQKP
GKPPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFLT ISSLQPEDVATYYCLGGVGA VSYRTSF
GGGTKVEIKGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLV ES GGGLVQPGRSLRLSCTASGSDI
NDYPITWVRQAPGKGLEWIGFINS GGSTWYASWVKGRFTISRDDSKSIAYLQMN SLKTE
DTAVYYCARGYSTYYRDFNIWQGTLVTVSSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY

RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL T
 KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLSDGSSFLLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGSGGGGSPGSQVQLVESGGGV
 VQPGRSLRLSCKASGYTFTRSTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPSSAYTNYNQKFKDRFTI
 SADKSKSTAF LQMDSLRPEDTGVYFCARPQVHYDYNFPYWGQGTPTVTVSSGGGGSG
 GGGSGGGGSAQDIQMTQSPSSLSASVGDRTMTCSASSSVSYMNWYQQKPKGAPKRWI
 YDSSKLASGVPARFSGSGGTDTYLTITSSLPEDFATYYCQQWSRNPPTFGGGTKLQITS
 SS (SEQ ID NO:212)

Последовательность ДНК для ROR207:

atggaagcaccagcgcagcttctctcctcctgctactctggctcccagataaccaccggatccagatgaccagtcctcctcctg
 tccgcctccgtggcgaccgggtgacctcaactgcagcctcccagctccatcgactccaacctggcctggtccagcagaagcccgcc
 aagcccccaagctgctgatctaccggcctcaactggcctccggcgtgcccctcccgttctccggctccggctccggcaccgactca
 ccctgacctctcctcctgcagcccaggagctggccacctactactgcctggcgcgctggcgccgtgctctaccggacctcctctg
 cggcgccaccaaggtggagatcaagggtggaggcgttcaggcggagggtgatccggcggctggcgccgtccggctggcgccgatct
 gagggtgacgtggtgagtcggcgccggcctggtgaccccggcggtcctgcggctgctctgacccgctccggctccgatca
 acgactaccatcactcctgggtgctggcagccccccgcaaggcctggagtgatcggtctcaactccggcgctccacctggtac
 gctcctggtggaaggccggtcaccatctcccggagactccaagtcctacgctacgagatgaactcctgaagaccgaggac
 acccggtgctattgccccgggctactccactactaccggactcaacatctggggccaggccacctggtgacctgtcctcga
 gtgagcccaaatctctgacaaaactcacatgcccaccgtgccagcactgaagccgctgggtgaccgtcagcttctccttccccca
 aaaccaaggacacctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgctggtggtggagctgagccacagaagacctgaggtcaagttc
 aactgtgactggagcggctgaggtgcataatgcaagacaagccgctggagagcagatgacaacagcacgtaccgtggtgacg
 tctcaccgtcctgcaccaggactggtgaatggcaaggaatacaagtcgctgctcaacaagccctcccagccccatcgagaaaa
 ccatctcaaaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgacacctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcag
 cctgacctgctggtcaagccttctatccaagcagatcgccgtgagtgaggagcaatggcgagccggagaactacaagacca
 cgctcccgtgctggactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaactcttctc
 atgtccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgagaagagcctctcctgctcgggttctggtggaggcgttcaggcggga
 ggtggctccggcggtggcgatcgccggctctcaggtccagctggtcaatctggcctgaggtgaagaagcctgggtcctcgtgaa
 ggtctcctgcaaggcttctgataacctcagcagatctacgatgactgggtgcagagccctggacaaggcctgagtgatagat
 acattaatcctagcagtgcttataactaattacaatcagaattcaaggacagagtcacgattaccgagcaaatccacgagcacagcctaca
 tggagctgagcagcctgagatctgaggacacggcctgtattactgtgcgagaccctcaatgattacaacgggttctctactgg
 ggccaaggaccctggtcaccgtctcctcaggtggaggcgttcaggcggagggtgatccggcggtggcgatcgggtggcgcgga
 tctgacatccagatgaccagctcctccacctgtctgcatctgtaggagacagagtcacatgactgacgtccagctcaagtgaagtt
 acatgaactggtatcagcagaaccagggaagccctcaagagatggattatgactcatcaaacctgcttctgggtccatcaaggttc

agcggcagtgatctgggacagattactctcaccatcagcagcctgcagcctgatgattttgcaacttattactgccaacagtgagtcgt
 aaccacccacfttcggcggaggaccaaggtggagatcaaacggctcctccagc (SEQ ID NO:213)

Белковая последовательность для ROR207:

MEAPAQLLFLLLLWLPD TTGDIQMTQSPSSLSASVGD RVTINCQASQSIDSNLAWFQQKP
 GKPPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGGVGA VSYRTSF
 GGGTKVEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGSDI
 NDYPITWVRQAPGKGLEWIGFINSGGSTWYASWVKGRFTISRDDSKSIAYLQMN SLKTE
 DTA VYYCARGYSTYYRDFNIWGQGLVTVSSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFL
 FPPKPKDTLMISRTP E VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL T
 KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGSGGGGSGGGGSGGGGSPGSQVQLVQSGPEV
 KPKGSSVKV SCKASGYTFSRSTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPSSA YTNYNQKFKDRVT
 ITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPQVHYDYN GFPYWGQGLVTVSSGGGGSG
 GGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGD RVTMTCSASSSVSYMNWYQQKPKGAP
 KRWIYDSSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQ PDDFATYYCQQWSRNPPTFGGGTKV
 FIKRSSS (SEQ ID NO:214)

Последовательность ДНК для ROR208:

atggaagcaccagcagcttctctctctctctactctggctcccagataaccaccggtgacatccagatgaccagtcctccctctccctg
 tccgctccctggcgcaccgggtgacctcaactgccagcctccagtcctcactccaacctggcctggtccagcagaagcccgcc
 cagcccccaagctgctgatctaccggcctccaacctggcctcggcgtgcccaccggcttccgctccgctccggcaccgacttc
 accctgacctctctccctggagccgagacgtggccacctactactgctggcggcgtggcgccgtgtcctaccggacctcttc
 ggcggcgccaccaaggtggagatcaaggggtgagggcgggtcaggcggaggtggatccggcgggtggcggctccgggtggcgggac
 tgaggtgacgtggtggagtccggcggcggcctggtgaccccggcggctccctcggctgtcctgaccgctccgctccgacatca
 acgactacccatcacctgggtgcgagcagccccggccaggcctggagtgatcggtctcatcaactccggcggctccacctggtac
 gcctctgggtgagggcgggtcaccatctcccgggacgactccaagtccatcgcctacctgacatgaactccctgaagaccgaggac
 accgctgtactattgcggcgggctactccacctactaccgggacttcaacatctggggccaggccacctggtgacctgtcctcga
 gtgagcccaaatctctgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcactgaagccgggtgcaccgtcagcttctctctccccca
 aaaccaagacacctcatgatctccggacctgaggtacatgctggtggtggacgtgagccaggaagacctgaggtcaagttc
 aactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagcaaaagccgggaggagcagtagacaacagcacgtacctgtggtcagcg
 tctcaccgtctgaccagactggctgaatggcaaggaatacaagtgcgctctcaacaaagccctccagccccatcgagaaaa
 ccatctcaagccaaagggcagccccgagaaccaggtgtaccctgccccatcccggtgagctgaccaagaaccaggtcag
 cctgacctgcctgtaaaaggcttctatccaagcagatcgcctggagtgaggagcaatgggcaagcggagaacaactacaagacca

cgctcccgtgctggactccgacggctccttctctctacagcaagctaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaactctctc
atgctccgtgatgcatgagctctgcacaaccactacacgcagaaagcctctccctgtctccgggtctggaggagcgggtcaggcggg
ggtggctccggcgggagcgcgggctctcaggtccagctggtggagtctggggcggagtggtgcagcctggcgggactga
ggctgtcctgcaaggcttctggctacaccttactagatctacgatcactgggtaaggcagccctggacaaggcttggatggattgga
tacattaatcctagcagtgcttataataataatcagaattcaaggacaggttcacaatcagcgcagacaaatccaagagcacagcctc
ctgcagatggacagcctgagggccgagacaccggcgtctattctgtgcacggcccaagtccactatgattacaacgggttccctactg
ggccaaggactcccgtcactgtctctagcgggtggcggggtctgggggtggcggatccggagggtggtgctctgcacaagacatcc
agatgaccagctccaagcagcctgtctcaagcgtgggggacagggtcaccatgacctgcagtgccagctcaagtgaagtacatga
actggtaccagagaagccgggcaaggccccaaaagatggattatgactatcaaaactggcttctggagtcctctcgtcctcagtg
cagtggtctgggaccgactataacctcacaatcagcagcctgcagcccgaagatttcgccacttattactgccagcagtggtgagtcgtaac
caccacgcttggaggggggacaaagctacaattatcctccagc (SEQ ID NO:215)

Белковая последовательность для ROR208:

MEAPAQLLFLLLLWLPDITGDIQMTQSPSSLSASVGDRTVINCQASQSIDSNLAWFQQPK
GQPPKLLIYRASNLASGVPDFRFSGSGSGTDFTLTISLEAEDVATYYCLGGVGA VSYRTS
FGGGTKVEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGSDI
NDYPITWVRQAPGQGLEWIGFINSGGSTWYASWVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTE
DTAVYYCARGYSTYRDFNIWQGTLVTVSSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSRDEL
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGSGGGGSPGSQVQLVESGGGV
VQPGRSLRLSCKASGYTFTRSTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPSSAYTNYNQKFKDRFTI
SADKSKSTAFQMDSLRPEDTGVYFCARPQVHYDYNFPYWGQGTPTVTVSSGGGGSG
GGGSGGGGSAQDIQMTQSPSSLSASVGDRTVMTCSASSSVSYMNWYQQKPKAPKRWI
YDSSKLASGVPARFSGSGSDYTLTISLQPEDFATYYCQQWSRNPPTFGGGTKLQITS
SS (SEQ ID NO:216)

Последовательность ДНК для ROR209:

atggaagcaccagcgcagcttctctctctgctactctggctcccagataccaccggtagatccagatgaccagctccccctcctccctg
tccgctccgtgggcgaccgggtgacctcaactgccaggcctcccagtcactccaactggcctggtccagcagaagcccggc
cagcccccaagctgctgatctaccggcctcaactggcctccggcgtgcccaccgggtctccgctccgctccggcaccgacttc
acctgacctctcctcctggagccgaggacgtggccactactactgctggcggcgtggcggcggcgtgctcctaccggacctcttc
ggcggcggcaccgaagtgagatcaagggtggagcgggtcaggcggaggtggatccggcgggtggcggctccggtggcggcggatc
tgagggtcagctggtggagtccggcggcggcctggtgacccggcggcctcctgctgctgacccgctccggctccgacatca

acgactaccatcacctgggtgcgagcagccccggccagggcctggagtgatcggtctcatcaactccggcggctccacctggtac
gctcctgggtgaagggccggtcaccatctccgggacgactccaagtccatcgctacctgcagatgaactcctgaagaccgagggac
accgccgtgactattgccccgggtactccactactaccgggactcaacatctggggccagggcacctggtgacctgtcctcga
gtgagcccaaatctctgacaaaactcacacatgccaccgtgccagacctgaagccgcggtgcaccgtcagttctctccccccca
aaaccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgctggtggtggagctgagccacagaaacctgaggtcaagttc
aactggtacgtggagcggctggaggtgataatgccaagacaagccgcgaggagcagtagacaacagcacgtaccgtggtcagcg
tcctaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggaatacaagtgccggtctccaacaagccctccagccccatcgagaaaa
ccatctcaaaagcaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcag
cctgacctcctggtaaggtctctatccaagcagatcgccgtgagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacaagacca
cgctcccgtgctggactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaactcttctc
atgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgagaagacctctcctgtctccgggtctggtggagcgggttcagcgga
ggtggctccggcggtggcggatcgccggctctcaggtccagctggcaatctggcctgaggtgaagaacctgggtcctcgtgtaa
ggtctctgcaaggtcttgatataacctcagcagatctcagatgcaactgggtgacagggccctggacaagggcttgagtgatagat
acattaatcctagcagtgcttataactaataatcagaatcaaggacagagtcacgattaccgaggacaatccacgagcacagcctaca
tggagctgagcagcctgagatctgaggacacggcctgtattactgtgcgagaccccaagtccactatgattacaacgggttcttactg
ggccaaggaacctggtcacctctcctcaggtggagcgggtcaggcggaggtggatccggcggtggcggatcgggtggcggcggga
tctgacatccagatgaccagctcctccaccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatgacttgagtgccagctcaagtgaagtt
acatgaactggtatcagcagaaccagggaagccctaagagatggattatgactatccaaactggcttctgggtccatcaaggttc
agcggcagtggtatgggacagattactctcaccatcagcagcctgcagcctgatgatttgaacttattactgccaacagtgagctgt
aaccaccacttctggcggagggaccaaggtggagatcaaacggtcctccagc (SEQ ID NO:217)

Белковая последовательность для ROR209:

MEAPAQLLFLLLLWLPDITGDIQMTQSPSSLSASVGDRTINCQASQSIDSNLAWFQQKP
GQPPKLLIYRASNLASGVDPDRFSGSGGTDFTLTISSLEAEDVATYYCLGGVAVSYRTS
FGGGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGSDI
NDYPITWVRQAPGQGLEWIGFINSSTWYASWVKGRFTISRDDSKSIAIYLMNSLKTE
DTAVYYCARGYSTYYRDFNIWQGTLVTVSSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSGDFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGSGGGSGGGSPGSQVQLVQSGPEV
KKPGSSVKVSKASGYTFSRSTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPSSAYTNYNQKFKDRVT
ITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPQVHYDYNFPYWGQGLVTVSSGGGGSG
GGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRTMTCSASSSVSYMNWYQQKPKGAP

KRWIYDSSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPDDFATYYCQQWSRNPPTFGGGTKV
EIKRSSS (SEQ ID NO:218)

Последовательность ДНК для ROR231:

atggaggcaccgccagctgctgttctgtgctgctgctccctgataccaccggagacatccagatgacccaatccccttagtctct
ccgctagcgtcggagaccgctgaccatcaattgtcaagcatctcagagtattgacagcaatctcctggttcagcagaagccaggaaa
gccaccaagctcctgattataggctagcaacctggcttctggtgtccttagtaggttcagcggctctgggagtgccacagacttaccct
gaccattagtagtctcagcccgaagatgtcgtctacttactcctcggaggagtggtgctccttctatcgcacctcattggagtggtg
accaaagtggagatcaaggtggtgctcgggggtgctcgggggtcaggggggggagggtctggaggcggcgatcagaagtca
gctggtggaatctggaggaggtgctgctcagccagcaggtcctcggctgagctgcatccgctctgacattaatgactaccct
atcacctgggtgagcagcggcccgtaaggcctggagtgatcgggttcatcaattctggtgatctacttggtagcgaagctgggtga
aaggacgttcaacaattagtagagcactcaagtctatcgcatactcagatgaatgctggaagacagaggacaccgctgactactt
gtgcaagaggatactcacttactaccgctgattcaataatctggggccagggaaccctggtgacagtgtcctcagtgagcccaatctctg
acaaaactcacatgcccaccgtcccagcacctgaagccgctgggtgaccctcagcttctcttcccccaaaccaaggacacc
tcatgatctccggaccctgaggtcacatgctggtggtgacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggagc
gctgagggtgcataatgccaagacaagccgctgggagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc
caggactggctgaatggcaaggaatacaagtgctcgaagcctcgaagccctccagccccatcgagaaaacctctccaaagccaa
aggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgctg
aaaggcttctatccaagcagatcctcctggtgagtgagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc
actccgagcgtccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgttctctcatgctccgtgat
gaggctctgcacaaccactacagcagaagagcctcctcctgctccgggtccggaggcggcggctccggcggcggcggcggcggc
ggcggcggcagccccgatcccaggtgagctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgct
ggcagcggatatacctttagccgctcaccatgcatgggtgagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc
cagcagcgttataccaactacaatcagaagtttaaggaccgggtgacctaccgccgataagtcaccagcaccgctacatggagct
gtccagcctgaggagcagagataccgctgtactattgcgccggccccaggtccattacgactacaacggcttccctattggggcca
gggaaccctggtgacctgtccagcggagcggcggcagcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc
cgatctcagatgaccagtcctccctccacctgtccgctagcgtggcgatcgggtgacctgacctgagcggcagcagcagcagcagc
ctacatgaactggtaccagcagaagcccggcaaggtcccaagaggtgatttacgactccagcaagctggcctctggttccccagcag
gttctctgtagcggcagcggcacagactacacctgacctctcctcctcagcggcagcttccacctactattccaagcagtggt
cccgaatccccctacttggcggcgccaccaaggtggagatcaagaggagctccagc (SEQ ID NO:219)

Белковая последовательность для ROR231:

MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGDIQMTQSPSSLSASVGDRTVINCQASQSIDSNLAWFQKPK
GKPPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLGGVGVAVSYRTSF
GGGTKVEIKGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGSDI

NDYPITWVRQAPGKGLEWIGFINSGGSTWYASWVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNLSKTE
 DTAVYYCARGYSTYYRDFNIWQGTLTVSSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFL
 FPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
 KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGSGGGGSPGSQVQLVQSGPEV
 KKPSSVSKVSKASGYTFSRSTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPSSAYTNYNQKFKDRVT
 ITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPQVHYDYNQFPYWGQGLTVTVSSGGGGSG
 GGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGRVTMTCSSSSVSVMNRYQKPKGKAP
 KRWIYDSSKSLASGVPSRFRSGSGTDYTLTISSLQPDFATYYCQWRSRNPPTFGGGTKV
 EIKRSSS (SEQ ID NO:220)

Последовательность ДНК для ROR233:

atggaggctcccgtcagctgctgttctcctgctgctggctgcccacaccacagggcagatccagatgacccagtcctctcctccct
 gtcctgtagcgtggcgatagggtgacatcaactgccagctcccagtcattgactccaatctggcctggtccagagaagccggg
 acagcccccaagctgctgattacagggcctcaactggcttccggcgtgctgacaggttctccgatccggcagcggcaccgacttc
 accctgacatctcctccctggagggcagagatgcccactactactgtctggcggcgtggcgctgtgagctatcggacctcctcg
 gggcgcgaccacaaggtggagatcaaggcgcgcgcgcgagcggcgcgcgcgcgagcggcgcgcgaggctccggcgcgcgcgcg
 agcaggggtgcagctggtgaaagcggagggcctggtgagcctggaaggtccctgaggtgctctgcacagccagcggctccgac
 atcaacgactacccatcacctgggtgagcagctcctggccagggcctggaatggatcggctttatcaacagcggcgcgagcactg
 gtatgcttctgggtgaaagggcgggtcaccattagcagggacgactccaagtccattgctctacctgcagatgaaacctgaagaccgag
 gacaccgctgctactactgcgccagggctacagcacctattaccgggactttaacatctggggccagggcacactggtcaccgtgtct
 cgagtgagcccaatcttctgacaaaactcacatgcccaccgtgccagcactgaagccggggtgaccgtcagttcttcttccc
 cccaaaaccgaagcaccctcatgatctcccagaccctgaggtcacatgctggtggtggagcgtgaccacgaagaacctgaggtca
 agttcaactggtacgtggagcggcgtggaggtgcataatgccaagacaagccggggagggagcagtagacaacagcagctaccgtggtc
 agcgtcctcaccgtcctgcaccaggactgctgaatggcaaggatacaagtcgctgctccaacaagccctcccagccccatcga
 gaaaaccatctccaaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccag
 gtcagcctgacctgcctgcaaaaggcttctatcaagcgacatcggctggagtgaggagcaatgggagcgggagaacaactaca
 gaccacgctcccgtgctggactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaact
 cttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtccggagcggcggtcc
 ggcggcggcgagcggcgcgcgcgagccccggatcccaggtgcagctggtgcagtctgtcctgaggtgaaaaagcctggtcctc
 agcgtgaaaggtgctcgaaggccagcggatacaccttagccggtccaccatgattgggtgagcaggtcctggacagggcctgga
 gtgatcggctacatcaacccagcagcgttataccaactacaatcagaagttaaggaccgggtgacctaccggcgataagtcacc
 agcaccgctacatggagctgtccagcctgaggagcagagatacccgctgtactattgccccggcccaggtcattacgactacaac
 ggttcccctattggggccagggaaacctggtgacctgtccagcggagggcgcgcgagcggcgcgcgagcggcgcgagggagg

cagcggcggaggaggctccgacattcagatgaccagtcctccctccaccctgtccgctagcgtggcgatcgggtgacccatgacctgca
 gccccagcagctccgtgtctacatgaactggtaccagcagaagcccgcaaggctccaagaggtgatttacgactccagcaagctg
 gcctctggtgtcccagcaggttctctgtagcggcagcggcacagactacacctgacctctctccctgcagcccagcatttcgcca
 cctactattgccagcagtggtcccggaatccccctacctttggcggcggcaccacaggtggagatcaagaggagctccagc (SEQ ID
 NO:221)

Белковая последовательность для ROR233:

MEAPAQLLFLLLLWLPD TTGDIQMTQSPSSLSASV GDRVTINCQASQSIDSNLAWFQQKP
 GQPPKLLIYRASNLASGV PDRFSGSGSGTDFTLT ISSLEAEDVATYYCLGGVGA VSYRTS
 FGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGSDI
 NDYPITWVRQAPGQGLEWIGFINS GGSTWYASWVKGRFTISRDDSKSIA YLQMNSLKTE
 DTA VYYCARGYSTYYRDFNIWGGQTLVTVSSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFL
 FPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL T
 KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGSGGGGSPGSQVQLVQSGPEV
 KPKGSSVKV SCKASGYTFSRSTMHWVRQAPGQGLEWIGYINPSSA YTNYNQKFKDRVT
 ITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPQVHYDYN GFPYWGQGLVTVSSGGGGSG
 GGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASV GDRVTMTCSASSSVSYMNWYQQKPKGAP
 KRWIYDSSKLASGVPSRFSGSGSDYTLTISSLQ PDDFATYYCQQWSRNPPTFGGGTKV
 EIKRSSS (SEQ ID NO:222)

Таблица 15. Обобщенные данные по последовательностям SEQ ID NO

Назначение	Описание	ДНК SEQ ID NO	Белковая SEQ ID NO
TSC311 или TSC312	Fc DRA222	1	2
TSC313	Fc H7L1	3	4
TSC314	Fc H7L4	5	6
TSC315	Fc H7L5	7	8
TSC316	Fc H8L1	9	10
TSC317	Fc H8L4	11	12
TSC318	Fc H8L5	13	14
TSC319	Fc H9L1	15	16
TSC320	Fc H9L4	17	18
TSC321	Fc H9L5	19	20
TSC322	Fc H10L1	21	22
TSC323	Fc H10L4	23	24
TSC324	Fc H10L5	25	26
TSC334	Fc H7L6	27	28
TSC335	Fc H7L7	29	30
TSC336	Fc H7L8	31	32
TSC337	Fc H8L6	33	34
TSC338	Fc H8L7	35	36
TSC339	Fc H8L8	37	38
TSC340	Fc H10L6	39	40
TSC341	Fc H10L7	41	42
TSC342	Fc H10L8	43	44
TSC370	TSC342 G27Y	45	46
TSC371	TSC342 M53I	47	48
TSC372	TSC342 I21M	49	50
TSC390	TSC370 A9P	51	52
TSC391	TSC370 A9P M53I	53	54
TSC392	TSC370 A9P I21M	55	56
TSC393	TSC370 M53I I21M	57	58
TSC394	TSC370 A9P M53I I21M	59	60
TSC408	Анти-PSMA X TSC391	61	62

TSC409	Анти-PSMA X TSC392	63	64
TSC410	Анти-PSMA X TSC393	65	66
TSC411	Анти-PSMA X TSC394	67	68
TSC471	Анти-PSMA X TSC456	205	206
TSC266	Анти-PSMA X DRA222 (huVL-VH 107-1A4 scFv-Fc-DRA222 scFv)	209	210
CAS105	Анти-CD37 X DRA222	69	70
Анти-CD37 X TSC445	Анти-CD37 X TSC394	71	72
Анти-CD37 X TSC452	Анти-CD37 X (TSC394 VL + DRA222 VH)	73	74
Анти-CD37 X TSC453	Анти-CD37 X (TSC394 VH + DRA222 VL)	75	76
Анти-CD37 X TSC454	Анти-CD37 X TSC394 E86D	77	78
Анти-CD37 X TSC455	Анти-CD37 X TSC394 F87Y	79	80
Анти-CD37 X TSC456	Анти-CD37 X TSC394 E86D F87Y	81	82
TSC455	TSC394 F87Y scFv (анти-CD3 scFv)		83
TSC456	TSC394 E86D F87Y scFv (анти-CD3 scFv)		84
DRA222	Анти-CD3 scFv		85
TSC455 и TSC456 VH	Варибельный тяжелый домен TSC455 и TSC456		86
DRA222 VH	Варибельный тяжелый домен DRA222		87
TSC455 VL	Варибельный легкий домен TSC455		88
TSC456 VL	Варибельный легкий домен TSC456		89
DRA222 VL	Варибельный легкий домен DRA222		90
Cris7 и DRA222 VH CDR1 (Kabat)	Анти-CD3 VH CDR1		91
Cris7 и DRA222 VH CDR2 (Kabat)	Анти-CD3 VH CDR2		92

Cris7 и DRA222 VH CDR3 (Kabat)	Анти-CD3 VH CDR3		93
Cris7 и DRA222 VL CDR1 (Kabat)	Анти-CD3 VL CDR1		94
Cris7 и DRA222 VL CDR2 (Kabat)	Анти-CD3 VL CDR2		95
Cris7 и DRA222 VL CDR3 (Kabat)	Анти-CD3 VL CDR3		96
Cris7 и DRA222 VH CDR1 (IMGT)	Анти-CD3 VH CDR1		199
Cris7 и DRA222 VH CDR2 (IMGT)	Анти-CD3 VH CDR2		200
Cris7 и DRA222 VH CDR3 (IMGT)	Анти-CD3 VH CDR3		201
Cris7 и DRA222 VL CDR1 (IMGT)	Анти-CD3 VL CDR1		202
Cris7 и DRA222 VL CDR2 (IMGT)	Анти-CD3 VL CDR2		203
Cris7 и DRA222 VL CDR3 (IMGT)	Анти-CD3 VL CDR3		204
ROR133	Анти-ROR1 (R11 L7H15) X DRA222	97	98
ROR193	Анти-ROR1 (R11 L7H15) X TSC394 F87Y	99	100
ROR134	Анти-ROR1 (R11 L7H10) X DRA222	101	102
ROR189	Анти-ROR1 (R11 L7H10) X TSC394 E86D F87Y	103	104
ROR154	Анти-ROR1 (R11 L7H16) X DRA222	105	106
ROR185	Анти-ROR1 (R11 L7H15) X TSC394 E86D F87Y	107	108
ROR179	Анти-ROR1 (R11 L8H16) X DRA222	109	110
ROR186	Анти-ROR1 (R11 L8H16) X TSC394 E86D F87Y	111	112
ROR181	Анти-ROR1 (R11 L7H17) X DRA222	113	114
ROR191	Анти-ROR1 (R11 L7H17) X TSC394 E86D F87Y	115	116
ROR182	Анти-ROR1 (R11 L9H18) X DRA222	117	118

ROR192	Анти-ROR1 (R11 L9H18) X TSC394 E86D F87Y	119	120
ROR243	Гуманизированное, кодон- оптимизированное анти-ROR1 X анти-CD3 (родительская анти-ROR1 молекула представляет собой ROR192) scFv-Fc-scFv	207	208
ROR206	ROR133 S40T G113R x DRA222 Fc ADCC- K322A-H111 в pEE12.4	211	212
ROR207	ROR133 S40T G113R x TSC456 Fc ADCC- K322A-H111 в pEE12.4	213	214
ROR208	ROR174 S40T G113R x DRA222 Fc ADCC- K322A-H111 в pEE12.4	215	216
ROR209	ROR174 S40T G113R x TSC456 Fc ADCC- K322A-H111 в pEE12.4	217	218
ROR231	Анти-ROR1 X анти-CD3	219	220
ROR233	Анти-ROR1 X анти-CD3	221	222
	Химерное биспецифическое анти- CD123 (VLVH) x анти-CD3 (TSC456) scFv-Fc-scFv		197
	Химерное биспецифическое анти- CD123 (VHVL) x анти-CD3 (TSC456) scFv-Fc-scFv		198

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. CD3-связывающий полипептид, содержащий CD3-связывающий домен, который специфически связывается с человеческим CD3 и который содержит гуманизованную переменную область легкой цепи иммуноглобулина и гуманизованную переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина,

причем переменная область легкой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность LCDR1, представленную в SEQ ID NO: 94, аминокислотную последовательность LCDR2, представленную в SEQ ID NO: 95, и аминокислотную последовательность LCDR3, представленную в SEQ ID NO: 96, и при этом переменная область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность HCDR1, представленную в SEQ ID NO: 91, аминокислотную последовательность HCDR2, представленную в SEQ ID NO: 92, и аминокислотную последовательность HCDR3, представленную в SEQ ID NO: 93;

при этом аминокислотный остаток в положении 9 в соответствии с системой нумерации IMGT переменной области тяжелой цепи иммуноглобулина представляет собой пролин; и

при этом аминокислотный остаток в положении 21 в соответствии с системой нумерации IMGT переменной области легкой цепи иммуноглобулина представляет собой метионин; и

при этом аминокислотный остаток в положении 87 в соответствии с системой нумерации IMGT переменной области легкой цепи иммуноглобулина представляет собой тирозин.

2. CD3-связывающий полипептид по п.1, отличающийся тем, что:

(а) переменная область легкой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 96% идентичную SEQ ID NO: 88, и переменная область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 96% идентичную SEQ ID NO: 86; или

(б) переменная область легкой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 96% идентичную SEQ ID NO: 89, и переменная область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 96% идентичную SEQ ID NO:86.

3. CD3-связывающий полипептид по п.1 или 2, отличающийся тем, что:

(а) переменная область легкой цепи иммуноглобулина содержит SEQ ID NO: 88 и переменная область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит SEQ ID NO: 86; или

(b) вариабельная область легкой цепи иммуноглобулина содержит SEQ ID NO: 89 и вариабельная область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит SEQ ID NO: 86.

4. CD3-связывающий полипептид по п.1, отличающийся тем, что аминокислотный остаток в позиции 52 в соответствии с системой нумерации IMGT вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина представляет собой аргинин и/или аминокислотный остаток в позиции 53 в соответствии с системой нумерации IMGT вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина представляет собой триптофан.

5. CD3-связывающий полипептид по п.1, отличающийся тем, что аминокислотный остаток в позиции 27 в соответствии с системой нумерации IMGT вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина представляет собой тирозин.

6. CD3-связывающий полипептид по п.1, отличающийся тем, что аминокислотный остаток в позиции 53 в соответствии с системой нумерации IMGT вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина представляет собой изолейцин.

7. CD3-связывающий полипептид по п.1, отличающийся тем, что аминокислотный остаток в позиции 86 в соответствии с системой нумерации IMGT вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина представляет собой аспарагиновую кислоту.

8. CD3-связывающий полипептид по любому из предыдущих пунктов, отличающийся тем, что CD3-связывающий домен содержит SEQ ID NO: 83 или SEQ ID NO: 84.

9. CD3-связывающий полипептид по любому из предыдущих пунктов, отличающийся тем, что CD3-связывающий домен представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv).

10. CD3-связывающий полипептид по п.9, отличающийся тем, что указанный scFv содержит линкер между вариабельной областью тяжелой цепи и вариабельной областью легкой цепи указанного scFv, и при этом указанный линкер содержит аминокислотную последовательность QRHNSSLNTGTQMAGHSPNS (SEQ ID NO: 148).

11. CD3-связывающий полипептид по п.9 или 10, отличающийся тем, что вариабельная область тяжелой цепи указанного scFv является amino-концевой по отношению к вариабельной области легкой цепи указанного scFv.

12. CD3-связывающий полипептид, содержащий:

(i) первый связывающий домен, который представляет собой CD3-связывающий домен, который специфично связывается с CD3 человека и содержит гуманизированную вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина и гуманизированную вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина,

при этом вариабельная область легкой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность LCDR1, представленную в SEQ ID NO: 94, аминокислотную последовательность LCDR2, представленную в SEQ ID NO: 95, и аминокислотную последовательность LCDR3, представленную в SEQ ID NO: 96, и при этом вариабельная область тяжелой цепи иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность HCDR1, представленную в SEQ ID NO: 91, аминокислотную последовательность HCDR2, представленную в SEQ ID NO: 92, и аминокислотную последовательность HCDR3, представленную в SEQ ID NO: 93;

при этом аминокислотный остаток в положении 9 в соответствии с системой нумерации IMGT вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина представляет собой пролин; и

при этом аминокислотный остаток в положении 21 в соответствии с системой нумерации IMGT вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина представляет собой метионин; и

при этом аминокислотный остаток в положении 87 в соответствии с системой нумерации IMGT вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина представляет собой тирозин; и

(ii) второй связывающий домен.

13. CD3-связывающий полипептид по п.12, отличающийся тем, что указанный CD3-связывающий полипептид содержит в порядке от amino-конца к карбокси-концу: (i) второй связывающий домен, (ii) шарнирную область, (iii) константную область иммуноглобулина, (iv) карбокси-концевой линкер и (v) CD3-связывающий домен.

14. CD3-связывающий полипептид по п.13, отличающийся тем, что указанная константная область иммуноглобулина содержит домен CH2 человеческого IgG1, содержащий замены L234A, L235A, G237A и K322A согласно системе нумерации EU.

15. CD3-связывающий полипептид по п.12 или 14, отличающийся тем, что:

(i) CD3-связывающий домен содержит: (a) вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и (b) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3; и

(ii) второй связывающий домен содержит: (a) вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и (b) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3.

16. CD3-связывающий полипептид по любому из пп.13-15, отличающийся тем, что шарнирная область получена из шарнирной области иммуноглобулина.

17. CD3-связывающий полипептид по любому из пп.13-16, отличающийся тем, что карбокси-концевой линкер содержит или состоит из SEQ ID NO: 196.

18. CD3-связывающий полипептид по любому из пп.13-17, отличающийся тем, что константная область иммуноглобулина содержит домены CH2 и CH3 иммуноглобулина из IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2 или IgD.

19. CD3-связывающий полипептид по любому из пп.12-18, отличающийся тем, что CD3-связывающий полипептид индуцирует перенаправленную Т-клеточную цитотоксичность (ПТКЦ).

20. CD3-связывающий полипептид по п.19, отличающийся тем, что CD3-связывающий полипептид индуцирует ПТКЦ с EC₅₀, составляющей приблизительно 30 пМ или меньше.

21. CD3-связывающий полипептид по любому из пп.12-20, отличающийся тем, что второй связывающий домен представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv).

22. CD3-связывающий полипептид по любому из пп.12-21, отличающийся тем, что второй связывающий домен связывается или взаимодействует с опухолеассоциированным антигеном.

23. CD3-связывающий полипептид по п.22, отличающийся тем, что указанный CD3-связывающий полипептид индуцирует зависимый от Т-клеток лизис клеток, экспрессирующих опухолеассоциированный антиген.

24. CD3-связывающий полипептид по п.22 или 23, отличающийся тем, что опухолеассоциированный антиген выбран из группы, состоящей из PSMA, CD19, CD20, CD37, CD38, CD123, Her2, ROR1, RON, гликопротеинового антигена A33 (gpA33) и CEА.

25. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая CD3-связывающий полипептид по любому из пп.1-24 или часть указанного CD3-связывающего полипептида, которая содержит гуманизованную вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина и гуманизованную вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина.

26. Экспрессионный вектор, содержащий сегмент нуклеиновой кислоты, кодирующий CD3-связывающий полипептид по любому из пп.1-24, причем сегмент нуклеиновой кислоты функционально связан с регуляторными последовательностями, подходящими для экспрессии сегмента нуклеиновой кислоты в клетке-хозяине.

27. Рекомбинантная клетка-хозяин, содержащая экспрессионный вектор по п.26.

28. Способ получения CD3-связывающего полипептида, включающий культивирование рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей экспрессионный вектор по п.26, в условиях, в которых происходит экспрессия сегмента нуклеиновой кислоты и, таким образом, получение CD3-связывающего полипептида.

29. Способ по п.28, дополнительно включающий выделение CD3-связывающего полипептида.

30. Фармацевтическая композиция для ингибирования роста опухоли у субъекта, нуждающегося в этом, содержащая CD3-связывающий полипептид по любому из пп.1-24 и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество.

31. Способ индукции перенаправленной Т-клеточной цитотоксичности (ПТКЦ) против клетки, экспрессирующей опухолеассоциированный антиген, включающий приведение указанной экспрессирующей опухолеассоциированный антиген клетки в контакт с CD3-связывающим полипептидом по любому из пп.1-24, причем указанное приведение в контакт происходит в условиях, в которых индуцируется ПТКЦ против экспрессирующей опухолеассоциированный антиген клетки.

32. Способ ингибирования роста опухоли у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества CD3-связывающего полипептида по любому из пп.1-24 или композиции по п.30.

33. Способ лечения рака или аутоиммунного нарушения у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества CD3-связывающего полипептида по любому из пп.1-24 или композиции по п.30.

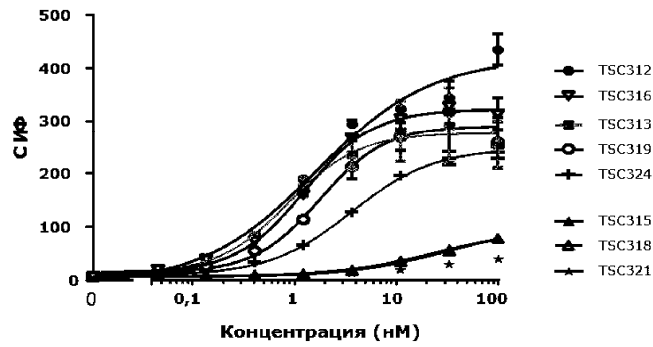
34. Способ по п.33, отличающийся тем, что рак представляет собой рак простаты, колоректальный рак, почечноклеточную карциному, рак мочевого пузыря, рак слюнной железы, рак поджелудочной железы, рак яичника, мелкоклеточный рак легкого, рак молочной железы, меланому, рак надпочечников, мантийноклеточную лимфому, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, неходжкинскую лимфому, острый миелоцитарный лейкоз (ОМЛ), В-лимфоидный лейкоз, бластное новообразование из плазмацитоидных дендритных клеток (БНПДК) или лейкоз ворсистых клеток.

35. Способ по п.34, отличающийся тем, что указанный рак молочной железы представляет собой трижды негативный рак молочной железы.

36. CD3-связывающий белок, который представляет собой димер из двух идентичных полипептидов, причем каждый полипептид представляет собой CD3-связывающий полипептид по любому из пп.1-24.

37. CD3-связывающий полипептид по любому из пп.1-24, отличающийся тем, что CD3-связывающий полипептид не демонстрирует или демонстрирует минимальную активность антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (АЗКЦ) и/или активность комплементзависимой цитотоксичности (КЗЦ).

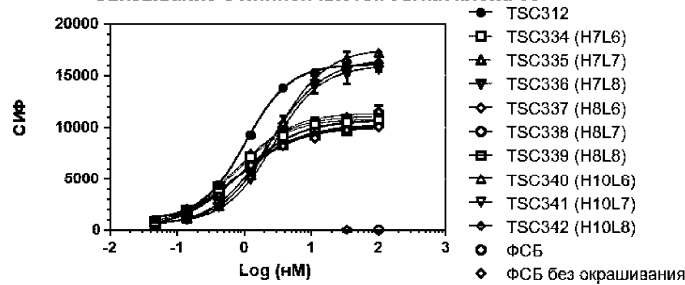
Связывание с CD3 на Т-клетках Jurkat



EC ₅₀ для связывания CD3	
TSC312	1,7 +/- 0,4 нМ
TSC313	0,87 +/- 0,3 нМ
TSC315	нд
TSC316	1,3 +/- 0,2 нМ
TSC318	нд
TSC319	1,8 +/- 0,4 нМ
TSC321	нд
TSC324	3,6 +/- 0,3 нМ

Фиг. 1

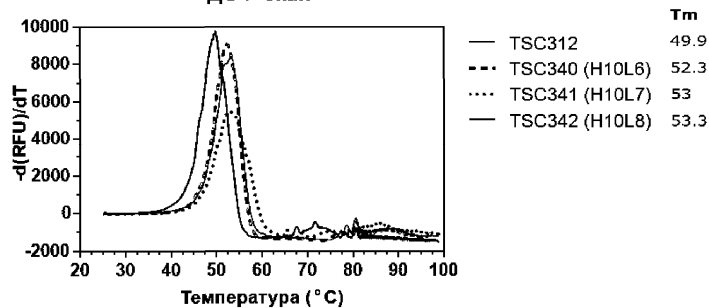
Связывание с линией клеток Jurkat клона 60



	Наилучшие результаты		EC ₅₀	
	Среднее	СПС	Среднее	СПС
TSC312	16106	86	1,04	0,03
TSC334 (H7L6)	10839	95	0,70	0,04
TSC335 (H7L7)	11431	168	0,74	0,07
TSC336 (H7L8)	11133	151	0,67	0,06
TSC337 (H8L6)	10073	143	0,73	0,07
TSC338 (H8L7)	10702	142	0,66	0,07
TSC339 (H8L8)	10334	206	0,78	0,10
TSC340 (H10L6)	17626	80	2,76	0,05
TSC341 (H10L7)	15963	229	2,67	0,15
TSC342 (H10L8)	16702	461	2,32	0,25

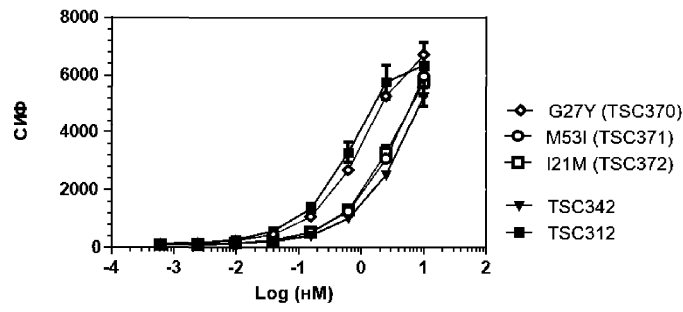
Фиг. 2

ДСФ-скан



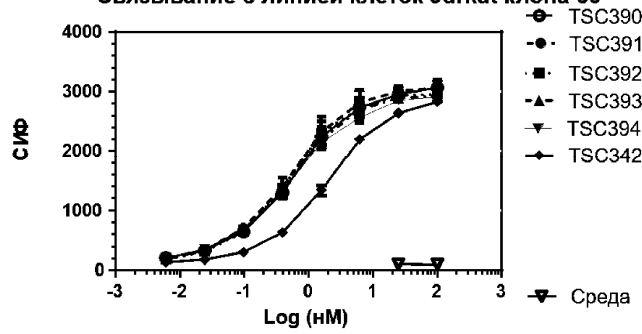
Фиг. 3

Связывание с линией клеток Jurkat клона 60



Фиг. 4

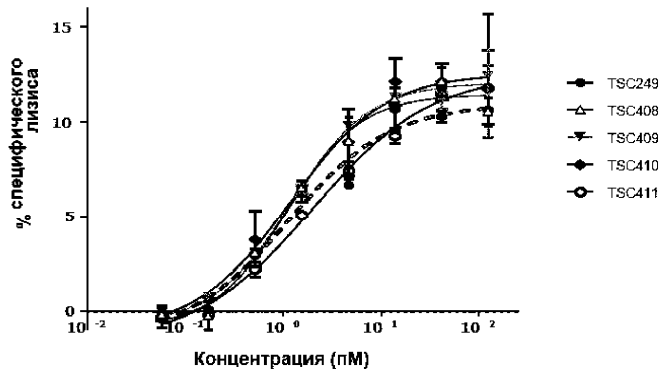
Связывание с линией клеток Jurkat клона 60



Фиг. 5

Активность ПТКЦ биспецифических молекул PSMAxCD3 с чередующимися доменами CD3

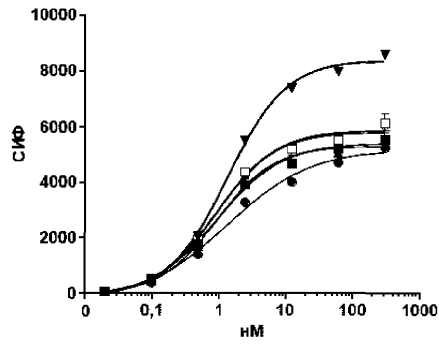
Анализ высвобождения Cr^{51} , 4 ч, клетки-мишени С4-2В



	ЕС ₅₀ Для ПТКЦ
TSC249	1,12 +/- 0,42 нМ
TSC408	1,10 +/- 0,26 нМ
TSC409	1,20 +/- 0,39 нМ
TSC410	1,18 +/- 0,52 нМ
TSC411	2,03 +/- 0,53 нМ

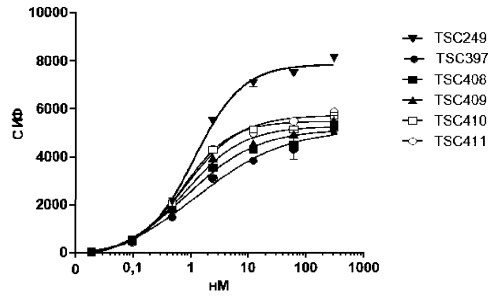
Фиг. 6

Связывание с Т-клетками яванского макака
Китайск.-яв. макак #141325



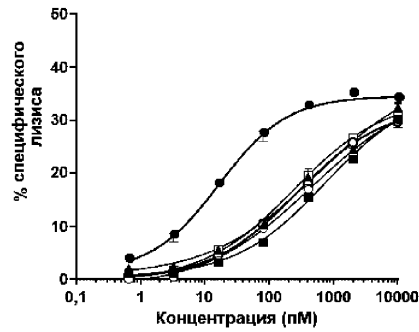
Фиг. 7А

Связывание с Т-клетками яванского макака
Китайск.-яв. макак #141334



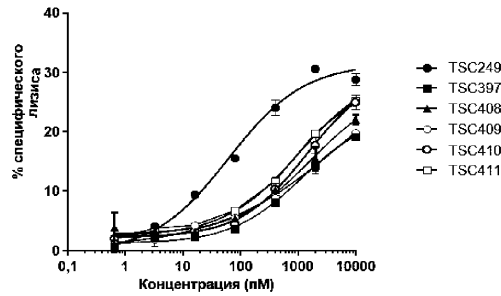
Фиг. 7В

ПТКЦ клеток С4-2В с МКПК яванского макака
4 ч анализ высвобождения Cr^{51}
Яв. макак #141325



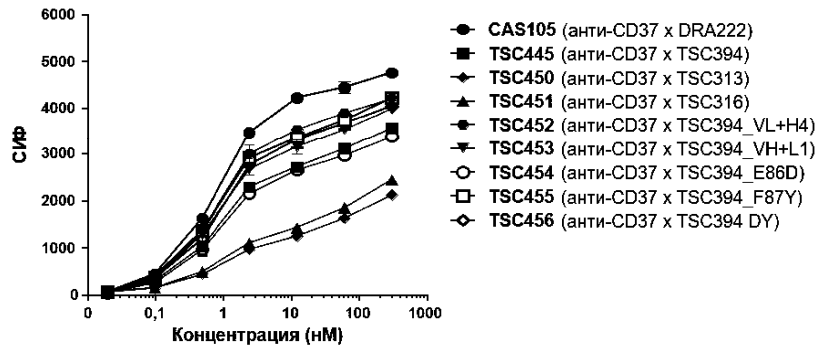
Фиг. 8А

ПТКЦ клеток С4-2В с МКПК яванского макака
4 ч анализ высвобождения Cr^{51}
Яв. макак #141334



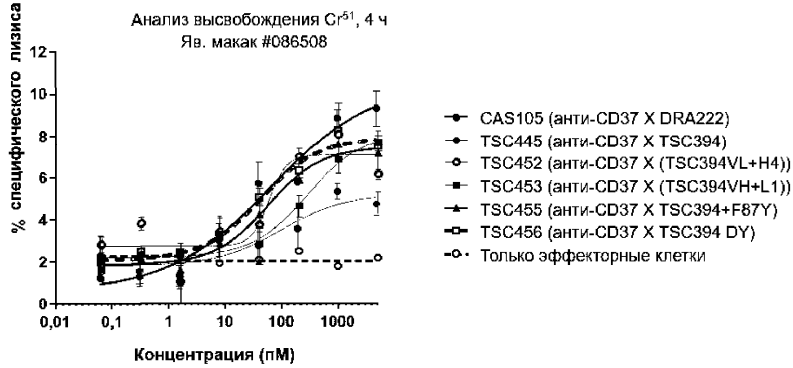
Фиг. 8В

Связывание с Т-клетками яванского макака
Яв. макак #086508



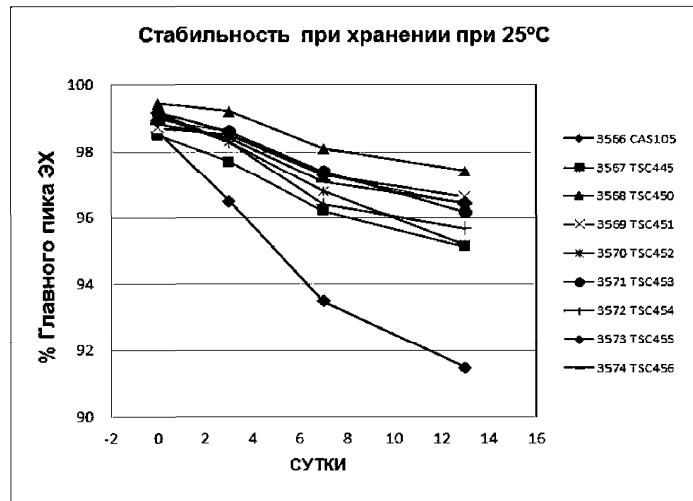
Фиг. 9

Анализ ПТКЦ с МКПК яванского макака против
клеток-мишеней Ramos



10:1 Э:М		EC50 для ПТКЦ
Ramos	CAS105	69,47 +/- 57,6 пМ
Яв. макак #086508	TSC445	101,3 +/- 142,1 пМ
	TSC452	61,65 +/- 45,57 пМ
	TSC453	298,6 +/- 218,9 пМ
	TSC455	60,18 +/- 21,51 пМ
	TSC456	44,78 +/- 19,9 пМ

Фиг. 10



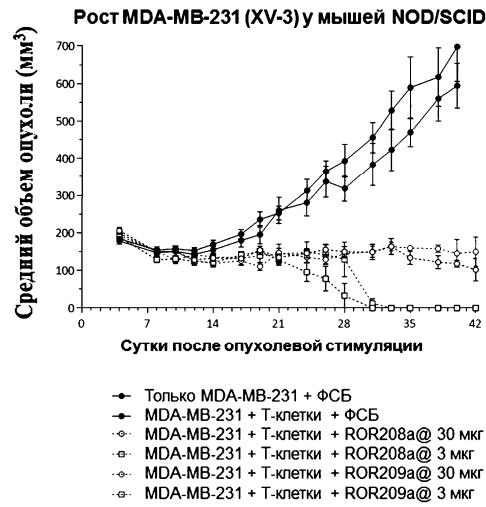
Фиг. 11

Оценка параметров	HL	Смакс.	ППК общ.	ППК инф.	Объем	Выведение
Единицы	ч	мкг/мл	ч ² /мкг/мл	ч ² /мкг/мл	мл/кг	мл/ч/кг
ROR206a	116.8	306.3	16306	16920	100.1	0.594
ROR207a	128.5	280.6	22617	24113	78.1	0.421
ROR208a	112.1	278.7	18545	19279	87.4	0.540
ROR209a	163.3	198.2	20941	23252	107.8	0.458

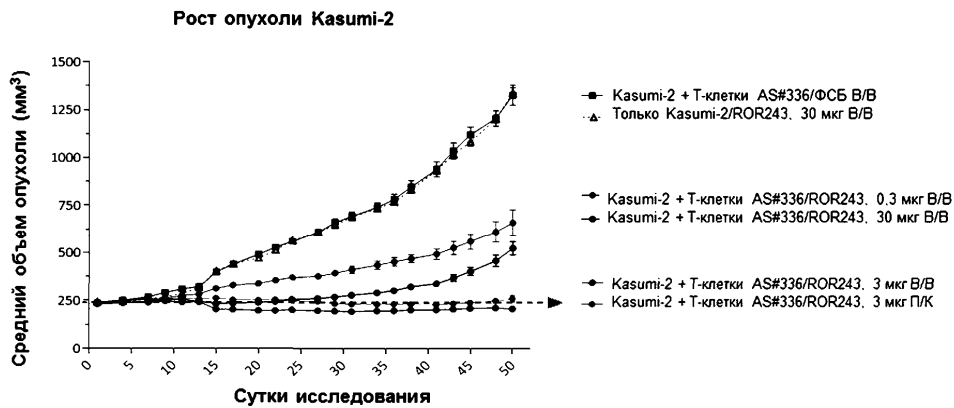
Фиг. 17А

Оценка параметров	CL	CLD2	V1	V2	Альфа HL	Бета HL	ППК
Единицы	мл/ч/кг	мл/ч/кг	мл/кг	мл/кг	ч	ч	ч ² /мкг/мл
ROR206a	0.635	4.197	29.9	70.3	3.22	117.8	15818
ROR207a	0.440	6.165	35.6	44.6	2.18	129.2	23042
ROR208a	0.581	3.940	35.6	49.9	3.48	107.3	17926
ROR209a	0.469	3.069	53.5	56.0	5.93	168.3	22666

Фиг. 17В



Фиг. 18



*Зависимость объема опухоли построена по среднему + СПС измерения объема опухоли

*Зависимость объема опухоли построена до момента достижения первой мышью в исследовании конечной точки

Фиг. 19



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2