

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043040**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.04.20

(21) Номер заявки
201890895

(22) Дата подачи заявки
2014.03.14

(51) Int. Cl. *C07K 7/08* (2006.01)
C07K 14/435 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)
A61K 38/10 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(54) ПЕПТИД, СВЯЗЫВАЮЩИЙ АНГИОПОЭТИН-2, МУЛЬТИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ КОМПЛЕКСЫ, СОДЕРЖАЩИЕ УКАЗАННЫЙ ПЕПТИД И АНТИТЕЛА, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 61/802,343

(32) 2013.03.15

(33) US

(43) 2019.02.28

(62) 201591546; 2014.03.14

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЗИНДЖЕНИЯ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Рошке Виктор, Ляфлёр Дэвид,
Гилберт Дэвид М., Кинер Питер (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) WO-A2-2012109624
WO-A2-2012162561

(57) Изобретение в целом относится к комплексу, содержащему антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), при этом указанный по меньшей мере один MRD содержит пептид, обладающий способностью связывать ангиопоэтин-2 (ANG-2), а указанный комплекс способен связывать мишень указанного антитела и ANG-2. Дополнительно, настоящее изобретение относится к композициям, содержащим указанный комплекс, в том числе фармацевтическим композициям, содержащим указанный комплекс и вспомогательные вещества, способам, включающим применение указанного комплекса, и применению указанного комплекса, в частности, для ингибирования ангиогенеза, лечения рака и воспалительных расстройств.

B1**043040****043040****B1**

Уровень техники
Область техники

Настоящее изобретение в целом относится к комплексу, содержащему антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), при этом указанный по меньшей мере один MRD содержит пептид, обладающий способностью связывать ангиопоэтин-2 (ANG-2). Дополнительно, настоящее изобретение относится к композициям, содержащим указанный комплекс, в том числе фармацевтическим композициям, способам, включающим применение указанного комплекса, и применению указанного комплекса, в частности, для ингибирования ангиогенеза, лечения рака и воспалительных расстройств.

Предпосылки создания изобретения

В последние годы усилия, направленные на поиск новых лекарственных средств, были в основном сосредоточены на идентификации агентов, модулирующих заранее выбранные индивидуальные мишени. Однако агенты, направленные на индивидуальные мишени, часто демонстрируют ограниченную эффективность и неудовлетворительные профили безопасности и устойчивости как результат малой чувствительности, избыточности, перекрестных взаимодействий, активности компенсаторных сигнальных путей и обратных или противоположно направленных сигнальных путей, связанных с терапевтической мишенью. Соответственно, усилия, направленные на поиск новых лекарственных средств, все чаще становятся направлены на поиск новых многокомпонентных способов терапии.

Разработка биспецифических или мультиспецифических молекул, нацеленных на две или большее количество мишеней одновременно, обеспечивает новое перспективное решение для получения новых системных агентов, нацеленных на несколько мишеней, демонстрирующих улучшенную эффективность и фармакологические свойства по сравнению со стандартными способами монотерапии. Многочисленные попытки разработки мультиспецифических молекул были основаны на иммуноглобулинподобных доменах или субдоменах. Например, биспецифические антитела традиционно получали путем химического связывания двух разных моноклональных антител или путем слияния двух гибридных клеточных линий с получением гибридной гибридомы. Другие основанные на иммуноглобулинподобных доменах технологии, использовавшиеся для создания мультиспецифических и/или мультивалентных молекул, включают однодоменные антитела (dAb), диатела, тандемные антитела (TandAb), нанотела, антитела BiTE, иммунофармацевтические средства на основе модульных белков малого размера (SMIP), антитела, полученные с помощью технологии DNL, белки Affibody, фиомеры, домены Куница, доменные антитела к альбумину Albu-dab, антитела DART, DVD-Ig, антитела Covx, пептитела, антитела на основе одноцепочечных Fv-фрагментов (scFv-Ig), SVD-Ig, dAb-Ig, антитела на основе технологии "Выступы-вогпадинах", антитела DuoBody™ и трифункциональные моноклональные антитела (trioAb). Хотя каждая из указанных молекул может связывать одну или большее количество мишеней, с каждой из них связаны проблемы, касающиеся сохранения характерных функций иммуноглобулина (например, времени периода полувыведения, эффекторной функции), получения (например, выхода, чистоты), валентности, одновременного распознавания мишеней и биодоступности. Другие попытки получения мультиспецифических и мультивалентных молекул были основаны на альтернативных вариантах скаффолдов (каркасных структур) на основе полипептидов VASP, панкреатического полипептида птиц (aPP), тетранектина (на основе CTLD3), аффилина (на основе γ B-кристаллина/убиквитина), ноттинсов (knottins), SH3-доменов, PDZ-доменов, тендамистата, трансферрина, домена с анкириновым консенсусным повтором (например, дарпинов (DARPin)), укладках белка липокалина (например, дуокалинов (Duocalin)), фибронектина (см., например, опубликованные заявки на патент США № 2003/0170753 и № 20090155275, включенные в настоящий документ посредством ссылки), домена белка А (например, белков Affibody), тиоредоксина. Другие попытки были основаны на альтернативных вариантах скаффолдов на основе соединения или связывания представляющих интерес полипептидов с альбумином (например, ALBUdAb (Domantis/GSK) и ALB-Kunitz (Duax)), последовательности с неструктурированными повторами из 3 или 6 аминокислот (например, технология PASylation® и технология XTEN®), и последовательности, содержащие домены с эластиноподобными повторами (см., например, заявку на патент США № 61/442106, которая включена в настоящий документ посредством ссылки). К настоящему времени указанные технологии продемонстрировали ограниченный клинический потенциал в качестве надежных платформ для разработки различных мультиспецифических и мультивалентных терапевтических композиций. Генетическая сложность большинства злокачественных новообразований и других расстройств у человека дает веские основания предполагать, что взаимодействие с одной мишенью или путем, связанным с указанными расстройствами, предположительно не способно обеспечить оптимальный или продолжительный терапевтический эффект. Таким образом, существует значительная потребность в разработке мультиспецифических и мультивалентных терапевтических средств, таких как мультиспецифические антитела, способных влиять на активность нескольких мишеней и/или сигнальных механизмов или оптимизировать терапевтические эффекты лечения, направленного против указанных расстройств.

Краткое описание изобретения

Настоящее изобретение относится к композициям, содержащим мультивалентные, а также мультивалентные и моновалентные мультиспецифические комплексы, содержащие скаффолды, такие как антитела, поддерживающие такие связывающие функциональные группы. Настоящее изобретение основано отчасти на неожиданном открытии, заключающемся в том, что мультиспецифические и мультивалентные связывающие композиции, например, полученные с применением платформы ZYBODY™ (Zyngenia, Inc.; см., например, международную публикацию №WO 2009/088805, которая включена в настоящий документ посредством ссылки), демонстрируют ярковыраженную синергическую биологическую активность по сравнению с комбинациями стандартных монотерапий. Предполагается, что указанная синергическая активность приведет к появлению новых вариантов терапии, направленной на лечение или предотвращение раковых заболеваний, заболеваний или расстройств иммунной системы (например, аутоиммунных заболеваний, таких как ревматоидный артрит и ВЗК), скелетной системы (например, остеопороза), сердечно-сосудистой системы (например, инсульта, заболевания сердца), нервной системы (например, болезни Альцгеймера), инфекционного заболевания (например, ВИЧ) и других заболеваний или расстройств, описанных в настоящем документе или известных из других источников в данной области техники.

Согласно одному варианту реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения терапевтически эффективного количества мультивалентного мультиспецифического MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для трех или большего количества мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для четырех или большего количества мишеней. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для пяти или большего количества мишеней. Согласно некоторым вариантам реализации с по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или большее количество указанных мишеней расположены на поверхности клетки. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или большее количество указанных мишеней представляют собой растворимые мишени (например, хемокины, цитокины и факторы роста). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает 1, 2, 3, 4 или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе.

Согласно дополнительным вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с раковым заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с 1, 2, 3, 4 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с раковым заболеванием.

Согласно дополнительным вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с 1, 2, 3, 4 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с заболеванием или расстройством иммунной системы.

Согласно дополнительным вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом), сердечно-сосудистой системы, нервной системы, или с инфекционным заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с 1, 2, 3, 4, 5 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом), сердечно-сосудистой системы, нервной системы, или с инфекционным заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе.

Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для трех или большего количества мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для четырех или большего количества мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для пяти или большего количества мишеней.

Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспеци-

фическая композиция содержит 2 сайта связывания для трех или большего количества мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для четырех или большего количества мишеней.

Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания для пяти или большего количества мишеней. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, или большее количество указанных мишеней связаны с клеточной мембраной. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, или большее количество указанных мишеней представляют собой растворимые мишени (например, хемокины, цитокины и факторы роста). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает 1, 2, 3, 4, или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе.

Согласно дополнительным вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с раковым заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с 1, 2, 3, 4, или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с раковым заболеванием. Согласно дополнительным вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с 1, 2, 3, 4, или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает:

(1) мишень на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолеассоциированный антиген на опухолевой клетке, иммунной клетке, пораженной заболеванием клетке или инфекционном агенте) и

(2) мишень на эффекторной клетке.

В соответствии с одним вариантом такое связывание одной или большего количества мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией направляет иммунный ответ на клетку, ткань, инфекционный агент или в другую представляющую интерес локализацию у пациента. Согласно некоторым вариантам реализации указанная эффекторная клетка представляет собой лейкоцит, такой как Т-клетка или естественная клетка киллер. Согласно другим вариантам реализации указанная эффекторная клетка представляет собой вспомогательную клетку, такую как миелоидная клетка или дендритная клетка.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает (1) мишень на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолеассоциированный антиген на опухолевой клетке, иммунной клетке, пораженной заболеванием клетке или инфекционном агенте) и (2) мишень на лейкоците, такую как молекула Т-клеточного рецептора. В соответствии с одним вариантом связывание одной или большего количества мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией направляет иммунный ответ на инфекционный агент, клетку, ткань, или другую представляющую интерес локализацию у пациента. Например, согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень на поверхности Т-клетки. Согласно конкретным вариантам реализации указанная композиция связывает CD3-мишень, выбранную из CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD3-гамма, CD3-зета, Т-клеточного рецептора альфа (TCR-альфа), Т-клеточного рецептора бета (TCR-бета) и мультимеров белков в комплексе CD3 (TCR). Согласно конкретным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD2. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, экспрессируемую на естественной клетке киллере. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, выбранную из: CD2, CD56 и CD161.

Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, экспрессируемую на вспомогательной (например, миелоидной) клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, выбранную из: CD64 (т.е. рецептор Fc-гамма), МНС класса 2 и его инвариантной цепи, Toll-подобного рецептора 1 (TLR1), Toll-подобного рецептора 2 (TLR2), TLR4, TLR5 и TLR6. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. является моновалентной). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единст-

венный сайт связывания мишени на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3), и несколько сайтов связывания мишени (т.е. является мультивалентной) на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолеассоциированного антигена на опухолевой клетке, например, мишени, описанной в настоящем документе). Согласно другим вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция содержит единственные сайты связывания двух разных мишеней (т.е. моновалентно связывает более чем одну другую мишень). Согласно конкретным вариантам реализации указанная представляющая интерес клетка или ткань представляет собой раковую клетку, иммунную клетку, пораженную заболеванием клетку или инфекционный агент.

Согласно некоторым вариантам реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит единственный сайт связывания CD3. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания CD3 и несколько сайтов связывания для 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней (например, опухолевого антигена или другой мишени, раскрытой в настоящем документе). Согласно другим вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания CD3 и единственный сайт связывания другой мишени (т.е. моновалентно связывает CD3 и другую мишень). Согласно другим вариантам реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания CD3-эпсилон. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания CD3-эпсилон и несколько сайтов связывания для 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней (например, опухолевого антигена или другой мишени, раскрытой в настоящем документе). Согласно другим вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания CD3-эпсилон и единственный сайт связывания другой мишени (т.е. моновалентно связывает CD3-эпсилон и другую мишень). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания мишени на раковой клетке, выбранной из рака молочной железы, рака толстой и прямой кишки, рака эндометрия, рака почки (почечно-клеточного рака), рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, лейкоза, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака поджелудочной железы и рака щитовидной железы. Согласно другим вариантам реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, которая содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывающей мишень) нуждающемуся в этом пациенту. Согласно некоторым вариантам реализации указанная вводимая мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная вводимая мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3) и несколько сайтов связывания (т.е. способна к мультивалентному связыванию) мишени, расположенной на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолевого антигена на опухолевой клетке). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците (например, CD3) и единственный сайт связывания другой мишени. Согласно некоторым вариантам реализации представляющая интерес клетка представляет собой опухолевую клетку ракового заболевания, выбранного из рака молочной железы, рака толстой и прямой кишки, рака эндометрия, рака почки (почечно-клеточного рака), рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, лейкоза, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака поджелудочной железы и рака щитовидной железы. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания мишени на неврологической опухоли. Согласно конкретным вариантам реализации указанная неврологическая опухоль представляет собой глиому (например, глиобластому, мультиформную глиобластому (GBM) и астроцитому), эпендимому, олигодендроглиому, нейрофибром, саркому, медуллобластому, примитивную нейроэктодермальную опухоль, аденому гипофиза, нейробластому или рак мозговых оболочек (например, менингиому, менингосаркому и глиоматоз). Согласно другим вариантам реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), которая содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывающей мишень) и несколько сайтов связывания для 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственные сайты связывания двух разных мишеней. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания мишени на раковой клетке, выбранной из рака молочной железы, рака толстой и прямой кишки, рака эндометрия, рака почки (почечно-клеточного рака), рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, лейкоза, рака предстательной железы, рака мочевого

пузыря, рака поджелудочной железы и рака щитовидной железы. Согласно другим вариантам реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), которая содержит единственный сайт связывания CD3 (например, CD3-эпсилон), моновалентно связывающий CD3, и несколько сайтов связывания для 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней, расположенных на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолевого антигена на опухолевой клетке). Согласно некоторым вариантам реализации указанная вводимая мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания CD3 (например, CD3-эпсилон) и единственный сайт связывания другой мишени, а также содержит несколько сайтов связывания мишени, расположенных на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолевого антигена на опухолевой клетке). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания мишени на раковой клетке, выбранной из рака молочной железы, рака толстой и прямой кишки, рака эндометрия, рака почки (почечно-клеточного рака), рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, лейкоза, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака поджелудочной железы и рака щитовидной железы. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывает мишень) на клеточной поверхности, требующей мультимеризации для передачи сигнала. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания рецептора фактора роста. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания представителя суперсемейства рецепторов ФНО. Согласно другим вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция дополнительно содержит единственный сайт связывания другой мишени (т.е. моновалентно связывает более чем одну другую мишень).

Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает мишень, связанную с опосредованной эндогенным рецептором гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) транспортной системой и способную проникать на мозговую сторону ГЭБ (в спинномозговую жидкость). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит два или большее количество сайтов связывания целевого антигена, связанного с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени, связанной с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой (например, опосредованными рецептором инсулина, рецептором трансферрина, рецептором лептина, рецептором липопротеинов и рецептором ИФР транспортными системами). Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция дополнительно связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, расположенных с мозговой стороны ГЭБ. Согласно конкретным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связанных с неврологическим заболеванием или расстройством. Согласно еще одному варианту реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения рака головного мозга, метастатического рака головного мозга или первичного рака головного мозга. Согласно дополнительному варианту реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения повреждения головного мозга, инсульта, повреждения спинного мозга или болевого синдрома.

Согласно другим вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащее антитело), связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом), сердечно-сосудистой системы, нервной системы, или с инфекционным заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с 1, 2, 3, 4, 5 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с одним или большим количеством перечисленных выше заболеваний или расстройств. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе.

Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция представляет собой ZYBODY™ (называемое в настоящем документе "MRD-содержащим антителом" или т.п.). Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит сайты связывания трех или большего количества мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит 2 сайта связывания четырех или большего количества мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации ука-

занное MRD-содержащее антитело содержит 2 сайта связывания пяти или большего количества мишеней. Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит 2 сайта связывания трех или большего количества мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит 2 сайта связывания четырех или большего количества мишеней. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит 2 сайта связывания пяти или большего количества мишеней. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или большее количество указанных мишеней расположены на поверхности клетки. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или большее количество указанных мишеней представляют собой растворимые мишени (например, хемокины, цитокины и факторы роста). Согласно другим вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе. Согласно другим вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащим антителом), связаны с раковым заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые MRD-содержащим антителом, связаны с 1, 2, 3, 4 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с раковым заболеванием.

Согласно другим вариантам реализации мишень, связываемая указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащим антителом), связана с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанным MRD-содержащим антителом, связаны с 1, 2, 3, 4, 5 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно другим вариантам реализации мишень, связываемая указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащее антитело), связана с заболеванием или расстройством скелетной системы, сердечно-сосудистой системы, нервной системы, или с инфекционным заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации мишень, связываемая указанным MRD-содержащим антителом, связана с 1, 2, 3, 4 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с одним или большим количеством перечисленных выше заболеваний или расстройств. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает 1, 2, 3, 4 или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции, предложенные в настоящем изобретении (например, MRD-содержащие антитела) обеспечивают возможность избирательного нацеливания на несколько мишеней (например, рецепторов и связанных с микроокружением мишеней), которым свойственны, например, разные, перекрывающиеся или избыточные механизмы действия, связанные с этиологией или патофизиологией заболевания или расстройства.

Согласно другим вариантам реализации настоящее изобретение включает мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), ковалентно или иным образом связанную с цитотоксическим агентом. Согласно некоторым вариантам реализации указанный цитотоксический агент ковалентно связан с MRD-содержащим антителом, посредством линкера. Согласно некоторым вариантам реализации указанный цитотоксический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибирующий рост агент, токсин (например, ферментативно активный токсин бактериального, грибного, растительного или животного происхождения, или его фрагменты), радиоактивный изотоп (т.е. радиоконъюгат) или пролекарство. Композиции, предложенные в настоящем изобретении, необязательно, связаны с цитотоксическим агентом, посредством линкера. Согласно конкретным вариантам реализации линкер, соединяющий мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию и цитотоксический агент, может быть расщеплен протеазой. Согласно конкретным вариантам реализации линкер, соединяющий мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию и цитотоксический агент, может быть расщеплен при низких значениях pH или в восстанавливающих условиях. Способы применения составов с композициями, предложенными в настоящем изобретении, и цитотоксическими агентами (например, конъюгатов MRD-содержащего антитела с лекарственными средствами) также охвачены настоящим изобретением.

Согласно другим вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции ковалентно или иным образом связаны с цитотоксическим агентом, выбранным из, например, токсина, энтеротоксина, нейротоксина, лейкоцидина или гемолизина, химиотерапевтического агента, лекарственного вещества (например, химиотерапевтического агента или пролекарства), антибиотика, радиоактивного изотопа, хелатного лиганда (например, DOTA, DOTP, DOTMA, DTPA и TETA) и нуклеолитического фермента. Согласно конкретным вариантам реализации указанный цитотоксический агент выбран из ауристатина и долостатина, MMAE, MMAF, и производного майтансиноида (например, DM1 (N(2')-деацетил-N(2')-(3-меркапто-1-оксопропил)майтансина), DM3 (N(2')-деацетил-N2-(4-меркапто-1-оксопентил)майтансина) и DM4 (N(2')-деацетил-N2-(4-меркапто-4-метил-1-оксопентил)-

майтансина). Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и мультиспецифическая композиция ковалентно или иным образом связана с цитостатическим агентом. Согласно другим вариантам реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию, предложенную в настоящем изобретении (например, MRD-содержащее антитело), вводят в комбинации с многоцелевым терапевтическим средством. Согласно одному варианту реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят в комбинации с многоцелевым ингибитором протеинкиназы. Согласно еще одному варианту реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят в комбинации с ингибитором NFκB. Согласно дополнительному варианту реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят в комбинации с ингибитором гистондеацетилазы (HDAC). Согласно дополнительному варианту реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят в комбинации с ингибитором HSP70 или HSP90. Согласно дополнительному варианту реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят в комбинации с химиотерапией.

Согласно некоторым вариантам реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию, предложенную в настоящем изобретении (например, MRD-содержащее антитело), вводят в комбинации с моноспецифическим терапевтическим средством (например, моноклональным антителом). Согласно некоторым вариантам реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция, предложенная в настоящем изобретении, представляет собой полноразмерное антитело, содержащее по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD). Согласно некоторым вариантам реализации указанное полноразмерное антитело содержит несколько доменов MRD. Согласно другим вариантам реализации указанное полноразмерное антитело содержит MRD более чем одного типа (т.е. несколько MRD с одинаковой или разной специфичностью). Также в настоящем изобретении реализованы варианты и производные таких комплексов с антителами.

MRD в MRD-содержащих антителах могут быть функционально связаны с указанными антителами в любой локализации на указанном антителе (например, на аминоконце тяжелой цепи или легкой цепи или карбоксильном конце тяжелой цепи или легкой цепи), могут быть присоединены к одному или к разным концам, и, необязательно, функционально связаны друг с другом или с антителом, посредством линкера.

Антитела в MRD-содержащих антителах могут представлять собой любую молекулу иммуноглобулина, которая связывается с антигеном и могут относиться к любому типу, классу или подклассу. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело гуманизировано или представляет собой антитело человека. Согласно другим вариантам реализации указанные антитела также содержат модификации, не препятствующие их способности связывать антиген. Согласно конкретным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) содержат модификации, усиливающие АЗКЦ, уменьшающие АЗКЦ, усиливающие КЗЦ или уменьшающие КЗЦ, увеличивающие период полувыведения антитела или уменьшающие период полувыведения антитела по сравнению с антителом без указанной модификации. Антитела в мультивалентных и мультиспецифических композициях (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению могут представлять собой любое антитело, которое связывается с мишенью, имеющей терапевтическое или диагностическое значение. Согласно предпочтительным вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывается с подтвержденной мишенью. Согласно некоторым вариантам реализации антитела, соответствующие указанным MRD-содержащим антителам, проходят клинические испытания для одобрения регуляторными органами. Согласно некоторым вариантам реализации антитела, соответствующие указанным MRD-содержащим антителам, имеются в продаже. Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с антигеном клеточной поверхности. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с ангиогенным фактором. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело связывается с ангиогенным рецептором. Согласно некоторым вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывается с мишенью, выбранной из: рЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, CD20, рецептора инсулиноподобного фактора роста-1, ФРЭС, р-ФРЭС и простатического специфического мембранного антигена. Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывается с ФРЭС, рФРЭС-1, рЭФР, ErbB2, рецептором ИФР-1 (IGF-IR), cMET, рецептором ФРФ-1 (рФРФ-1), рецептором ФРФ-2 (рФРФ-2) и CD20.

Согласно одному варианту реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывается с рЭФР. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой эрбитукс (Erbbitux®), нимотузумаб или залутумумаб (например, от Genmab). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело эрбитукс (Erbbitux®) или конкурентно ингибирует связывание антитела эрбитукс (Erbbitux®) с рЭФР. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело эрбитукс (Erbbitux®). Согласно одному конкретному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело эрбитукс (Erbbitux®), нимотузумаб, залутумумаб (например, от Genmab). Со-

гласно еще одному конкретному варианту реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурентно ингибирует связывание антитела эрбитукс (Erbbitux®), нимотузумаб, залутумумаб с рЭФР.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рЭФР и мишень, выбранную из: ФПГ, CD64, содержащего CUB-домен белка 1 (CDCP1), RON, сMET, ErbB2, ErbB3, рецептора инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1), плацентарного фактора роста (ПФР), молекулы RGMa, альфа-рецептора ТцФР (PDGFRa), β-рецептора ТцФР (PDGFRb), рецептора ФРЭС-1, рецептора ФРЭС-2, рецептора 10A суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNFRSF10A, DR4), TNFRSF10B (DR5), TNFRSF21 (DR6), ИФР-1,2, ИФР-2, CD3, CD4 и белок D группы естественных киллеров 2 (NKG2D). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащие антитела) связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рЭФР. Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой нимотузумаб, залутумумаб. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой эрбитукс (Erbbitux®). Согласно конкретному варианту реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывается с ErbB2. Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело Герцептин (Herceptin®) (трастузумаб) или конкурентно ингибирует связывание антитела Герцептин® (трастузумаба) с ErbB2. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело связывается с ФРЭС. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело Авастин® (AVASTEST®, бевацизумаб), или конкурентно ингибирует антитело Авастин®. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело Авастин®.

Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело связывается с мишенью, которая связана с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с ФНО. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело Хумира® (HUMIRA®, адалимумаб) или конкурентно ингибирует антитело Хумира®. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело Хумира®. Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с ФНО. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и Симпони (SIMPONI™, голимумаб) антитело или конкурентно ингибирует антитело Симпони™. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело Симпони™.

Согласно некоторым вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывается с мишенью, которая связана с заболеванием или расстройством системы обмена веществ, сердечно-сосудистой, скелетно-мышечной, нервной или скелетной системы. Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывается с мишенью, которая связана с дрожжевой, грибной, вирусной или бактериальной инфекцией или заболеванием. Настоящее изобретение также охватывает MRD, содержащие MRD композиции (например, антитела и/или другие композиции), полинуклеотиды, кодирующие домены MRD, способы получения MRD и способы применения MRD, предложенных в настоящем изобретении. Согласно одному варианту реализации длина MRD составляет приблизительно 2-150 аминокислот. Согласно еще одному варианту реализации длина MRD составляет приблизительно 2-60 аминокислот. MRD могут быть присоединены к антителу или другим MRD прямо или через линкер. MRD могут представлять собой любую связывающий мишень пептид. Согласно некоторым вариантам реализации мишень MRD представляет собой растворимый фактор. Согласно другим вариантам реализации мишень MRD представляет собой трансмембранный белок, такой как рецептор клеточной поверхности. Согласно еще одному варианту реализации мишень MRD представляет собой клеточный антиген. Согласно конкретному варианту реализации мишень MRD представляет собой CD20.

Согласно еще одному варианту реализации мишень MRD представляет собой интегрин. Согласно одному аспекту пептидная последовательность нацеленного на интегрин MRD представляет собой YCRGDCT (SEQ ID NO:3).

Согласно другому аспекту пептидная последовательность нацеленного на интегрин MRD представляет собой PCRGDCL (SEQ ID NO:4).

Согласно еще одному аспекту пептидная последовательность нацеленного на интегрин MRD представляет собой TCRGDCY (SEQ ID NO:5).

Согласно другому аспекту пептидная последовательность нацеленного на интегрин MRD представляет собой LCRGDCF (SEQ ID NO:6).

Согласно дополнительному варианту реализации мишень MRD представляет собой ангиогенный цитокин. Согласно одному аспекту пептидная последовательность нацеленного на (т.е. связывающего) ангиогенный цитокин MRD представляет собой MGAQTNFMPMDLEQRLYEQFILQQGLE (SEQ ID NO:7).

Согласно одному варианту реализации мишень MRD представляет собой ErbB2. Согласно еще одному варианту реализации мишень, с которой связывается MRD, представляет собой ErbB3. Согласно дополнительному варианту реализации мишень, с которой связывается MRD, представляет собой опухолассоциированный поверхностный антиген или молекулу адгезии эпителиальных клеток (Er-CAM). Согласно одному варианту реализации мишень, с которой связывается MRD представляет собой ФРЭС. Согласно одному аспекту пептидная последовательность нацеленного на ФРЭС MRD представляет собой VEPNCDIHVMWEWECFERL (SEQ ID NO:13).

Согласно одному варианту реализации мишень, с которой связывается MRD, представляет собой рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Иллюстративный пример нацеленного на рИФР-1 MRD включает, например, пептидная последовательность, имеющую формулу: NFYQCIDLLMAYPAEKSRGQWQECRTGG (SEQ ID NO:37);

Согласно одному варианту реализации мишень MRD представляет собой опухолевый антиген. Под "опухолевым антигеном" в настоящем документе могут подразумеваться как антигены (в том числе мутации), экспрессируемые исключительно на опухолевых клетках (т.е. опухолеспецифические антигены), так и антигены, экспрессируемые на опухолевых клетках и нормальных клетках (например, антигены, сверхэкспрессируемые на опухолевых клетках). Согласно одному варианту реализации мишень MRD представляет собой рецептор эпидермального фактора роста (рЭФР). Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения мишень MRD представляет собой ангиогенный фактор. Согласно дополнительному варианту реализации мишень MRD представляет собой ангиогенный рецептор. Согласно предпочтительному варианту реализации, настоящее изобретение относится к комплексу, содержащему антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), при этом указанный по меньшей мере один MRD содержит пептид, обладающий способностью связывать ангиопоэтин-2 (ANG-2), при этом указанный пептид содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 626. Согласно одному варианту реализации, указанное антитело связывает мишень, выбранную из группы, состоящей из: ФНО (TNF), ФРЭС (VEGF), рФРЭС-1 (VEGFR1), рЭФР (EGFR), ErbB2, рецептора ИФР-1 (IGF-IR), сMET, рФРФ-1 (FGFR1), рФРФ-2 (FGFR2) и CD20, предпочтительно указанное антитело связывает TNF. Согласно одному варианту реализации, указанный MRD способен связывать ANG-2, и указанное антитело способно связывать TNF одновременно. Согласно одному варианту реализации, указанное антитело выбрано из группы, состоящей из: адалимумаба, голумимаба и инфликсимаба. Дополнительно, предложен способ ингибирования роста клетки *in vitro*, который включает приведение в контакт указанной клетки с комплексом согласно настоящему изобретению. В рамках настоящего изобретения предложено применение заявленного комплекса при изготовлении медикамента для ингибирования ангиогенеза у пациента, или для лечения пациента, у которого присутствует рак или воспалительное расстройство, которое необязательно представляет собой аутоиммунное заболевание, воспалительное заболевание кишечника или артрит. В рамках настоящего изобретения также предложены способы ингибирования ангиогенеза у пациента и способы лечения пациента, у которого присутствует рак или воспалительное расстройство, которое необязательно представляет собой аутоиммунное заболевание, воспалительное заболевание кишечника или артрит, при этом указанные способы включают введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества комплекса согласно настоящему изобретению. В рамках настоящего изобретения предложена также фармацевтическая композиция, содержащая комплекс согласно настоящему изобретению и один или более фармацевтически приемлемых носителей, вспомогательных веществ и/или стабилизаторов.

Согласно еще одному варианту реализации MRD представляет собой сосудистый хоминг-пептид.

Согласно одному варианту реализации мишень MRD представляет собой фактор роста нервов.

Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело и/или MRD связывается с рЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, CD20, рецептором инсулиноподобного фактора роста-1 или простатическим специфическим мембранным антигеном.

Настоящее изобретение также относится к выделенному полинуклеотиду, содержащему последовательность нуклеотидов, кодирующую MRD-содержащее антитело. Согласно одному аспекту вектор содержит последовательность полинуклеотидов, кодирующая MRD-содержащее антитело. Согласно другому аспекту последовательность полинуклеотидов, кодирующая MRD-содержащее антитело, функционально соединена с регуляторной последовательностью, которая контролирует экспрессию на указанном полинуклеотиде. Согласно дополнительному аспекту клетка-хозяин содержит последовательность полинуклеотидов, кодирующую MRD-содержащее антитело.

Также предложены способы получения мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), а также применение указанных гибридов MRD-антител в диагностических и терапевтических целях. Настоящее изобретение также относится к способам разработки и получения мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) с полноразмерным антителом, содержащим MRD. Согласно одному аспекту указанный MRD происходит из библиотеки, полученной методом фагового дисплея. Согласно другому аспекту указанный MRD происходит из природных лигандов. Согласно другому аспекту указанный MRD получен с помощью технологии дрожжевого дисплея или РНК-дисплея.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения или предотвращения заболевания или расстройства у нуждающегося в этом субъекта (пациента), включающий введение антитела, содержащего MRD, указанному субъекту (пациенту). Согласно одному аспекту указанное заболевание представляет собой раковое заболевание. Согласно другому аспекту нежелательный ангиогенез ингибирован. Согласно другому аспекту ангиогенез модулирован. Согласно еще одному аспекту рост опухоли ингибирован.

Согласно некоторым вариантам реализации предложены способы лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) нуждающемуся в этом пациенту. Согласно некоторым вариантам реализации указанное заболевание, расстройство или повреждение представляет собой раковое заболевание. Согласно другим вариантам реализации указанное заболевание, расстройство или повреждение представляет собой расстройство иммунной системы. Согласно одному варианту реализации указанное расстройство иммунной системы представляет собой воспаление. Согласно еще одному варианту реализации указанное расстройство иммунной системы представляет собой аутоиммунное заболевание. Согласно дополнительному варианту реализации указанное расстройство иммунной системы выбрано из группы, состоящей из: ревматоидного артрита, болезни Крона, системной красной волчанки, воспалительного заболевания кишечника, псориаза, диабета, язвенного колита и рассеянного склероза. Согласно одному варианту реализации указанное заболевание, расстройство или повреждение представляет собой заболевание обмена веществ. Согласно еще одному варианту реализации указанное заболевание, расстройство, или повреждение представляет собой инфекционное заболевание. Согласно конкретным вариантам реализации указанное инфекционное заболевание представляет собой инфекцию вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) или СПИД, ботулизм, сибирская язва или *Clostridium difficile*. Согласно другим вариантам реализации указанное заболевание, расстройство, или повреждение является неврологическим. Согласно конкретному варианту реализации указанное неврологическое заболевание, расстройство или повреждение представляет собой боль. Согласно более конкретному варианту реализации указанная боль представляет собой острую боль или хроническую боль.

Согласно еще одному варианту реализации предложен способ лечения или предотвращения, включающий введение дополнительного терапевтического агента наряду с антителом, содержащим MRD. Согласно другим вариантам реализации указанные способы лечения или предотвращения включают введение антитела, содержащего MRD более чем одного типа.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 приведено схематическое изображение разных конструкций мультиспецифических и мультивалентных молекул. Домены MRD изображены в виде треугольников, кружков, ромбов и квадратов.

На фиг. 2A показано типичное пептитело в форме С-концевого гибрида с тяжелой цепью Fc.

На фиг. 2B показано MRD-содержащее антитело с С-концевым гибридом MRD с легкой цепью указанного антитела.

На фиг. 2C показано MRD-содержащее антитело с N-концевым гибридом MRD с легкой цепью указанного антитела.

На фиг. 2D показано MRD-содержащее антитело с уникальными пептидами MRD, соединенными с каждым концом указанного антитела.

На фиг. 3 представлены результаты твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) в которых интегрин и Ang2 связывались антителом против интегрина (JC7U), соединенным с нацеленным на Ang2 MRD (2×Con4).

На фиг. 4 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором интегрин и Ang2 связывались антителом против интегрина (JC7U), соединенным с нацеленным на Ang2 MRD (2×Con4).

На фиг. 5 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором антитело против ErbB2 соединяли с MRD, нацеленным на Ang2.

На фиг. 6 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на Ang2 MRD соединяли со связывающим рецептор фактора роста гепатоцитов (сMET) антителом.

На фиг. 7 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на интегрин MRD соединяли со связывающим ErbB2 антителом.

На фиг. 8 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на интегрин MRD соединяли со связывающим рецептор фактора роста гепатоцитов антителом.

На фиг. 9 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD соединяли со связывающим ErbB2 антителом.

На фиг. 10 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на ФРЭС MRD соединяли со связывающим ErbB2 антителом.

На фиг. 11 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на интегрин MRD соединяли с каталитическим антителом.

На фиг. 12 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на Ang2 MRD со-

единяли с каталитическим антителом.

На фиг. 13 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на интегрин MRD и нацеленный на Ang2 MRD соединяли со связывающим ErbB2 антителом.

На фиг. 14 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором нацеленный на интегрин MRD соединяли со связывающим ErbB2 антителом.

На фиг. 15 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором связывающий интегрин, Ang2 или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD соединяли со связывающим ErbB2 или рецептор фактора роста гепатоцитов антителом коротким линкерным пептидом.

На фиг. 16 представлены результаты анализа ИФА ELISA, в котором связывающий интегрин, Ang2 или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD соединяли со связывающим ErbB2 или рецептор фактора роста гепатоцитов антителом длинным линкерным пептидом.

На фиг. 17A приведены кривые зависимости "доза-эффект" для гибридов MRD и связывающего мальтозу белка (MBP), анализируемых на прямое связывание с Ang2.

На фиг. 17B представлены протестированные гибридные белки MRD-MBP, последовательность аминокислот MRD и значения EC_{50} (вычисленные с использованием четырехпараметрической аппроксимации). Последовательность мотива MXD в MRD-компонентах гибридов MRD-MBP выделена подчеркиванием, а мутированные остатки выделены жирным начертанием и курсивом.

На фиг. 18A представлены результаты анализа на прямое связывание доменов MRD антитела Zybody на основе Герцептина® (т.е. MRD, содержащего последовательности антитела Герцептин®) и антитела Герцептин® с Her2 (ErbB2) Fc в присутствии биотинилированного Ang2. Связывание детектировали с применением конъюгированного с HRP моноклонального антитела против цепи каппа человека.

На фиг. 18B представлены результаты анализа на прямое связывание антитела Zybody на основе Герцептина® (т.е. MRD, содержащего последовательности антитела Герцептин®) и антитела Герцептин® с Her2 Fc в присутствии биотинилированного Ang2. Связывание детектировали с применением конъюгированного с пероксидазой хрена (HRP) стрептавидина.

На фиг. 19A представлены результаты анализа на прямое связывание антител с доменами MRD и антитела Авастин® с ФРЭС в присутствии биотинилированного Ang2. Связывание детектировали с применением конъюгированного с HRP моноклонального антитела против цепи каппа человека.

На фиг. 19B представлены результаты анализа на прямое связывание антител с доменами MRD и антитела Авастин® с ФРЭС в присутствии биотинилированного Ang2. Связывание детектировали с применением конъюгированного с HRP стрептавидина.

На фиг. 20A представлены результаты анализа с применением проточной цитометрии, показывающего, что антитела с доменами MRD одновременно связывают Her2 и Ang2 на клетках BT-474 рака молочной железы. На фиг. 20B показано связывание антител с доменами MRD с HER2 на клетках BT-474 рака молочной железы.

На фиг. 21 представлены результаты анализа ИФА ELISA, демонстрирующего ингибирующий эффект антител с доменами MRD на связывание TIE-2 с иммобилизованных на планшете Ang2.

На фиг. 22 представлены результаты анализа конкурентного связывания, демонстрирующего ингибирование связывания биотинилированного антитела антителом-MRD и немеченым антителом.

На фиг. 23 представлены результаты анализа конкурентного связывания, который иллюстрирует ингибирование связывания меченого антитела с клетками BT-474 антителами с доменами MRD и немеченым антителом.

На фиг. 24A приведены аппроксимированные кривые "доза-ответ", иллюстрирующие ингибирование пролиферации клеток BT-474 Герцептином® с MRD Im32 (SEQ ID NO: 8), соединенным с тяжелой цепью, и Герцептином®. На фиг. 24B приведены аппроксимированные кривые "доза-ответ", иллюстрирующие ингибирование пролиферации клеток BT-474 Герцептином® с MRD Im32, соединенным с легкой цепью, и Герцептином®.

На фиг. 24C приведены аппроксимированные кривые "доза-ответ", иллюстрирующие ингибирование пролиферации клеток BT-474 Герцептином® с MRD 2 $\times$ con4, соединенным с тяжелой цепью, и Герцептином®. На фиг. 25A представлены результаты анализа цитотоксичности, иллюстрирующие опосредованный АЗКЦ киллинг клеток BT-474 Герцептином® с MRD Im32, соединенным с тяжелой цепью, Герцептином® с MRD Im32, соединенным с легкой цепью, и Герцептином®.

На фиг. 25B представлены результаты анализа цитотоксичности, иллюстрирующие опосредованный АЗКЦ киллинг клеток BT-474 Герцептином® с MRD 2 $\times$ con4, соединенным с тяжелой цепью, и Герцептином®.

На фиг. 26A показано ингибирование пролиферации ЭКПВЧ Авастином® с MRD Im32, соединенным с тяжелой цепью, и Авастином®, с использованием клеток ЭКПВЧ, полученных от GlucoTech (Гейтерсберг, Мэриленд).

На фиг. 26B показано ингибирование пролиферации ЭКПВЧ Авастином® с MRD Im32, соединенным с тяжелой цепью, и Авастином®, с использованием клеток ЭКПВЧ, полученных от Lonza.

На фиг. 27 показан эффект ритуксимаба (РИТУКСИМАБ®), Герцептина® и MRD-содержащего антитела на объем опухоли *in vivo*.

На фиг. 28 показана повышенная эффективность содержащих MRD антител для фосфорилирования рецепторов и активации АКТ по сравнению с эффектом антитела в комбинации с MRD.

На фиг. 29А показана повышенная эффективность биспецифического MRD-содержащего антитела на пролиферацию клеток по сравнению с эффектом антитела или антитела в комбинации с MRD.

На фиг. 29В показана повышенная эффективность пентаспецифического MRD-содержащего антитела на пролиферацию клеток по сравнению с эффектом антитела или антитела в комбинации с MRD.

На фиг. 30 показана повышенная эффективность в модели артрита антитела Хумира, содержащего Ang2-связывающий MRD, по сравнению с Хумирой.

На фиг. 31 показано ингибирование ЭФР-индуцированной сигнализации в клетках SK-BR3 антителами Zybody.

На фиг. 32 показано ингибирование херегулин-индуцированной сигнализации в клетках SK-BR3 антителами Zybody.

На фиг. 33 показано ингибирование ЭФР- и херегулин-индуцированной сигнализации в клетках SK-BR3 антителами Zybody.

На фиг. 34 приведена столбчатая диаграмма (А) и результаты проточной цитометрии (В), отражающие понижающую регуляцию экспрессии рЭФР на клетках SK-BR3 антителами Zybody.

На фиг. 35 показана понижающая регуляция рЭФР в клетках SKBR3 антителами Zybody.

На фиг. 36 показаны цитотоксические эффекты MRD-содержащих антител, проявляющих разные валентности агонизирующих DR5 MRD на трех разных скаффолдах на основе моноклональных антител (mAb) с применением анализа жизнеспособности клеток. На фиг. 36А показано, что антитело Zybody со скаффолдом на основе тетравалентного трастузумаба демонстрирует более высокую цитотоксическую активность по сравнению с соответствующими бивалентными антителами Zybody. На фиг. 36В-С показано, что антитела Zybody со скаффолдом на основе октавалентного трастузумаба и паливизумаба, содержащие 8 копий нацеленных на DR5 MRD, демонстрируют более высокую цитотоксическую активность по сравнению с соответствующими им тетравалентными антителами Zybody. На фиг. 36D показано, что мультиэпитопное нацеливание на отличные от DR5 рецепторы (her2 и рЭФР, соответственно) усиливает цитотоксическую активность тетравалентного нацеленного на DR5 MRD. На фиг. 36F показано, что скаффолд антитела Zybody на основе mAb (например, цетуксимаба (CET), трастузумаба (TRA) и паливизумаба (PAL)) может влиять на кажущуюся цитотоксическую эффективность нацеленных на DR5 MRD.

На фиг. 37 показано, что Ang-связывающие пептиды могут отличаться в отношении относительного связывания Ang1 и Ang4.

Анализировали пептиды

ANG100 (SEQ ID

NO:621), ANG126 (SEQ ID NO:232); ANG129 (SEQ ID NO:234); ANG156 (SEQ ID NO:255); ANG157 (SEQ ID NO:256); ANG163 (SEQ ID NO:261); ANG179 (SEQ ID NO:270); ANG200 (SEQ ID NO:628); ANG303 (SEQ ID NO:331); ANG318 (SEQ ID NO:625); ANG335 (SEQ ID NO:332); и ANG599 (SEQ ID NO:367).

Подробное описание изобретения

Ниже приводится описание мультивалентных и моновалентных мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител, содержащих по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD)). Связывание одного или большего количества доменов MRD с антителом приводит к образованию мультиспецифической молекулы согласно настоящему изобретению, которая сохраняет структурные и функциональные характеристики традиционных антител или Fc-оптимизированных антител и может легко быть синтезирована с применением стандартных систем и техник экспрессии антител. Указанное антитело может представлять собой любой подходящий антиген-связывающий иммуноглобулин, а MRD может представлять собой любой подходящий связывающий мишень пептид. Домены MRD могут быть функционально связаны с любой локализацией на антителе, и указанное присоединение может быть прямым или косвенным (например, через химический или полипептидный линкер). Композиции с антителами, содержащими MRD, способы получения антител, содержащих MRD, и способы применения антител, содержащих домены MRD, также описаны в приведенных ниже разделах.

Настоящим изобретением также охвачены домены MRD, содержащие MRD композиции, полинуклеотиды, кодирующие домены MRD, способы получения доменов MRD и способы применения MRD, предложенных в настоящем изобретении.

Используемые в настоящем документе названия разделов предназначены исключительно для организационных целей и не должны толковаться как каким-либо образом ограничивающие описываемый предмет изобретения. Для получения рекомбинантной молекулы ДНК, белка и антител, а также для культивирования тканей и трансформации клеток могут использоваться стандартные техники. Ферментативные реакции и техники очищения, как правило, осуществляют в соответствии с спецификациями

изготовителя или согласно общепринятым в данной области техники способам с применением стандартных процедур, таких как приведенные в источниках: Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988) и Sambrook et al., (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)) (оба источника включены в настоящий документ посредством ссылки), или согласно описанию в настоящем документе. Если не приведены конкретные определения, лабораторные процедуры и техники аналитической химии, синтетические методы органической химии, медицинской и фармацевтической химии в настоящем документе, а также используемая применительно к ним номенклатура представляют собой известные и применяемые в данной области техники номенклатуру, процедуры и техники. Стандартные техники могут использоваться для химического синтеза, химического анализа, получения фармацевтических составов, лекарственных форм, доставки лекарств и лечения пациентов.

I. Определения.

Термины "мультивалентные и моновалентные мультиспецифические комплексы", "мультивалентные и мультиспецифические комплексы", "MRD-содержащие антитела", "антитело-MRD молекул", "молекулы MRD-антитела", "антитела, содержащие MRD" и "антитела Zyboby" используются в настоящем документе взаимозаменяемо и не охватывают пептитело. Каждый из указанных терминов может также использоваться в настоящем документе для обозначения "комплекса" согласно настоящему изобретению. Мультивалентные и моновалентные мультиспецифические комплексы может содержать домены MRD, антитела, цитотоксические агенты, и связывающие мотивы помимо доменов MRD, которые связываются с одной или большим количеством мишеней. Например, мультивалентный и моновалентный мультиспецифический комплекс (например, MRD-содержащее антитело) может содержать фрагмент или производное связывающей последовательности, содержащейся в антителе (например, одиночный связывающий домен, ScFv, область CDR) и/или могут также включать цитотоксический агент (например, терапевтический агент). Такие молекулы также описаны в предварительной заявке на патент США №61/481063, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. Термины "мультивалентный(ые) и моновалентный(ые) мультиспецифический(ие) комплекс(ы)" и "мультивалентные и моновалентные мультиспецифические комплексы", соответственно, в настоящем документе относятся к композициям, способным связывать 2 или большее количество мишеней, и содержащих один сайт связывания и/или несколько сайтов связывания разных эпитопов. Соответственно, предполагается, что указанный термин включает комплексы, содержащие несколько сайтов связывания для каждого из связываемых указанным комплексом разных эпитопов, или как вариант, комплексы, содержащие по меньшей мере один единственный сайт связывания другого эпитопа. Указанные разные эпитопы могут располагаться на одной или на разных мишенях. Мишени мультивалентных и мультиспецифических комплексов могут располагаться на одной или на разных клетках. Мультивалентные и моновалентные мультиспецифические комплексы могут быть мультивалентными и мультиспецифическими и могут, соответственно, связывать две или большее количество мишеней и содержать два или большее количество сайтов связывания каждой из мишеней, связываемых указанным комплексом. Мультивалентные и моновалентные мультиспецифические комплексы могут также содержать один единственный сайт (или большее количество единственных сайтов) связывания одной мишени (или большего количества мишеней) и несколько сайтов связывания других мишеней и, соответственно, указанные комплексы являются моновалентными (в отношении единственного(ых) сайта(ов) связывания), мультивалентными и мультиспецифическими. Кроме того, мультивалентные и моновалентные мультиспецифические комплексы могут быть моновалентными и мультиспецифическими и, соответственно, содержать только единственные сайты связывания двух или большего количества разных мишеней. Термин "комплекс мультивалентного и моновалентного мультиспецифического комплекса и лекарственного средства" или "MRD-содержащее антитело-цитотоксический агент" в настоящем документе относится к мультивалентному и моновалентному мультиспецифическому комплексу, содержащему одну или большее количество цитотоксических агентов.

Термин "цитотоксический агент" в настоящем документе включает любой агент, оказывающий на клетки неблагоприятное действие, в том числе, например, вещество, которое ингибирует или предотвращает функцию клеток и/или вызывает разрушение клеток. Предполагается, что указанный термин включает химиотерапевтический агент, лекарственное вещество (например, цитокин или пролекарство), антибиотик, радиоактивный изотоп, хелатный лиганд (например, DOTA, DOTP, DOTMA, DTPA и TETA), нуклеолитический фермент, токсин, такой как токсин - малая молекула или ферментативно активный токсин бактериального, грибного, растительного или животного происхождения, включая фрагменты и/или варианты указанных токсинов. Согласно конкретным вариантам реализации указанный цитотоксический агент выбран из: ауристатина, доластатина, MMAE, MMAF, производного майтансиноида (например, DM1 (N(2')-деацетил-N(2')-(3-меркапто-1-оксипропил)майтансина), DM3 (N(2')-деацетил-N2-(4-меркапто-1-оксипентил)майтансина) и DM4 (N(2')-деацетил-N2-(4-меркапто-4-метил-1-оксипентил)майтансина).

Термин "антитело" используется в настоящем документе для обозначения молекул иммуноглобулина, способных связывать антигены посредством антигенсвязывающего домена (т.е. антитело-

комбинирующий сайт). Термин "антитело" включает поликлональные, олигоклональные (смеси антител) и моноклональные антитела, гибридные, одноцепочечные и гуманизированные антитела. Термин "антитело" также включает антитело человека. Согласно некоторым вариантам реализации антитело содержит по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные между собой дисульфидными связями. Каждая тяжелая цепь состоит из вариабельной области тяжелой цепи (обозначаемой в настоящем документе аббревиатурой VH) и константной области тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи состоит из трех доменов: CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь состоит из вариабельной области легкой цепи (обозначаемой в настоящем документе аббревиатурой VL) и константной области легкой цепи. Константная область легкой цепи состоит из одного домена, CL. Области VH и VL могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), перемежаемые более консервативными областями, называемыми каркасными областями (FR). Каждая из VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных в направлении от аминоконца к карбоксильному концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Согласно другим вариантам реализации указанное антитело представляет собой гомомерное антитело тяжелой цепи (например, антитела камелидов), в котором отсутствует первый домен константной области (CH1), но сохраняет в остальном интактную тяжелую цепь и способен связывать антигены через антигенсвязывающий домен. Вариабельные области тяжелых и легких цепей в гибридах антитело-MRD согласно настоящему изобретению содержат функциональный связывающий домен, взаимодействующий с антигеном.

Термин "моноклональное антитело", как правило, относится к популяции молекул антитела, которые содержат только один вид антитело-комбинирующего сайта, способного вступать в иммунную реакцию с конкретным антигеном. Моноклональное антитело, соответственно, как правило, проявляет один тип сродства к связыванию любого эпитопа, с которым оно вступает в иммунную реакцию. В настоящем документе "моноклональное антитело" может также содержать молекулу антитела, содержащую совокупность антитело-комбинирующих сайтов (т.е. совокупность вариабельных доменов), каждый из которых обладает иммуноспецифичностью в отношении другого антигена, например, биспецифическое моноклональное антитело. Соответственно, в настоящем документе "моноклональное антитело" относится к популяции гомогенных антител, вовлеченных в высокоспецифичное распознавание и связывание одной или двух (в случае биспецифического моноклонального антитела) антигенных детерминант, или эпитопов. В этом заключается отличие от поликлональных антител, которые, как правило, включают разные антитела, направленные против разных антигенных детерминант. Термин "моноклональное антитело" относится к таким антителам, полученным любым числом способов, включая, но не ограничиваясь перечисленными, с использованием гибридомы, селекции фагов, рекомбинантной экспрессии, дрожжей и трансгенных животных. Термин "антитело с двойной специфичностью" используется в настоящем документе для обозначения молекулы иммуноглобулина, которая содержит вариабельный домен иммуноглобулина с двойной специфичностью, при этом указанный вариабельный домен с двойной специфичностью может быть сконструирован из любых двух моноклональных антител.

Термин "гибридные антитела" относится к антителам, отличающимся тем, что последовательность аминокислот молекулы иммуноглобулина происходит из двух или большего количества видов. Как правило, вариабельная область как легких, так и тяжелых цепей соответствует вариабельной области антител, происходящей из одного вида млекопитающих (например, мыши, крысы, кролика и т.д.) с нужной специфичностью и/или сродством (аффинностью), а константные области гомологичны последовательностям антител, происходящих из другого вида (обычно человека), чтобы избежать возникновения иммунного ответа у указанного вида. Термин "гуманизированное антитело" относится к формам не принадлежащих человеку (например, мышинных) антител, представляющих собой специфические цепи иммуноглобулина, гибридные иммуноглобулины или их фрагменты, которые содержат минимальные не принадлежащие человеку (например, принадлежащие мыши) последовательности. Как правило, гуманизированные антитела представляют собой иммуноглобулины человека, в которых остатки определяющей комплементарности области (CDR) заменены остатками CDR не являющегося человеком вида (например, мыши, крысы, кролика, хомяка), обладающими требуемой специфичностью и/или аффинностью (Jones et al., *Nature*, 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323-327 (1988); Verhoeven et al., *Science* 239:1534-1536 (1988)). В некоторых случаях остатки каркасной области Fv (FR) иммуноглобулина человека заменены соответствующими остатками антитела не являющегося человеком вида, обладающего требуемой специфичностью и/или аффинностью. Гуманизированное антитело может быть дополнительно модифицировано путем замены дополнительных остатков или в каркасной области Fv и/или в замененных не принадлежащих человеку остатках для улучшения и оптимизации специфичности, аффинности и/или эффективности антитела. В общем случае гуманизированное антитело содержит по существу все из по меньшей мере одного, и, как правило, двух или трех вариабельных доменов, содержащих все или по существу все из областей CDR, соответствующие не принадлежащему человеку иммуноглобулину, тогда как все или по существу все FR-области представляют собой FR-области консенсусной последовательности иммуноглобулина человека. Гуманизированное антитело может также содержать константную область иммуноглобулина или домен (Fc), как правило, из иммуноглобулина челове-

ка. Примеры способов, используемых для получения гуманизированных антител, описаны в следующих источниках: патент США №5225539, патент США №4816567, Morrison, Science 229:1202 (1985); Oi et al., BioTechniques 4:214 (1986); Cabilly et al., Taniguchi et al., EP 171496; Morrison et al., EP 173494, WO86/01533; WO8702671; Boulianne et al., Nature 312:643 (1984); и Neuberger et al., Nature 314:268 (1985), каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. В настоящем документе антитела "человека" включают антитела, имеющие последовательность аминокислот иммуноглобулина человека или одной или большего числа зародышевых линий человека и включают антитела, выделенные из библиотек иммуноглобулинов человека или из животных, несущих трансгены одного или большего количества иммуноглобулинов человека и не экспрессирующих эндогенные иммуноглобулины, согласно описанию ниже, а также, например, в патенте США № 5939598, Kucherlapati et al. Антитело человека может по-прежнему считаться "принадлежащим человеку" даже в том случае, когда в указанном антителе осуществлены замены аминокислот. Примеры способов, используемых для получения антител человека, описаны в следующих источниках: международные заявки на патент № WO98/24893, WO92/01047, WO96/34096 и WO96/33735; европейский патент №0598877; патенты США № 5413923, 5625126, 5633425, 5569825, 5661016, 5545806, 5814318, 5885793, 5916771 и 5939598; и Lonberg and Huszar, Int. Rev. Immunol. 13:65-93 (1995), включенных в настоящий документ посредством ссылки.

"Антитело-комбинирующий сайт" представляет собой структурный фрагмент молекулы антитела, состоящий из вариабельных и гипервариабельных областей тяжелой и легкой цепей, который специфически связывает антиген (вступает в иммунную реакцию с антигеном). Термин "вступать в иммунную реакцию" в различных формах означает специфическое связывание между содержащей антигенную детерминанту молекулой и молекулой, содержащей антитело-комбинирующий сайт, такой как целая молекула антитела или ее фрагмент. Во встречающихся в природе антителах шесть "определяющих комплементарность областей", или "CDR", присутствующих в каждом антигенсвязывающем домене, представляют собой короткие, не являющиеся непрерывными последовательности аминокислот, расположенные специфическим образом, обеспечивающим формирование антигенсвязывающего домена при принятии антителом его трехмерной конфигурации в водной среде. Оставшиеся аминокислоты антигенсвязывающих доменов, называемые "каркасными" областями, демонстрируют меньшую межмолекулярную вариабельность. Каркасные области главным образом имеют β -складчатую конформацию, и области CDR образуют петли, соединяющие указанную β -складчатую структуру, а в некоторых случаях образующие часть указанной β -складчатой структуры. Соответственно, каркасные области действуют таким образом, что образуется скаффолд, обеспечивающий расположение областей CDR в правильной ориентации за счет нековалентных взаимодействий между цепями. Антигенсвязывающий домен (т.е. антитело-комбинирующий сайт), образованный расположенными указанным образом областями CDR определяет комплементарность поверхности эпитопу на иммунореактивном антигене. Указанная комплементарная поверхность обеспечивает нековалентное связывание антитела с когнатным эпитопом. Аминокислоты, содержащие области CDR и каркасные области, соответственно, могут быть легко идентифицированы для любой заданной вариабельной области тяжелой или легкой цепи специалистом в данной области техники, поскольку они были точно определены (см. источники: "Sequences of Proteins of Immunological Interest" ("Последовательности белков, представляющих интерес для иммунологии"), Kabat, E., et al., U.S. Department of Health and Human Services, (1983); а также Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987), включенные в настоящий документ посредством ссылки). "Гуманизированное антитело" или "гибридное антитело" включает антитела, в которых последовательности CDR, происходящие из зародышевой линии другого вида млекопитающих, такого как мышь, привиты на каркасные последовательности человека.

Термины "Т-лимфоцит", "Т-клетка", "Т-клетки" и "популяция Т-клеток" используются в настоящем документе взаимозаменяемо для обозначения клетки или клеток, экспонирующей(их) на поверхности один или большее количество антигенов, характерных для Т-клеток, например, CD3 и CD11b. Термин включает потомство Т-клетки или популяцию Т-клеток. "Т-лимфоцит", или "Т-клетка" включает клетку, которая экспрессирует CD3 на клеточной поверхности и Т-клеточный антигенраспознающий рецептор (TCR), способный к распознаванию антигена при экспонировании на поверхности аутологичных клеток или любой антигенпредставляющей матрицы, наряду с одной или большим количеством молекул МНС или одной или большим количеством неклассических молекул МНС. Термин "Т-клетки" может относиться к любым Т-клеткам, в том числе, например, лимфоцитам, фенотипически являющимся CD3⁺, т.е. экспрессирующим CD3 на клеточной поверхности.

В настоящем документе CD3 используется для индивидуального или совокупного обозначения молекулы, экспрессируемой в качестве части Т-клеточного рецептора и имеет значение, которое, как правило, придается указанному термину в данной области техники. В отношении человека термин CD3 охватывает все известные субъединицы CD3, например, CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD3-гамма и CD3-зета (TCR-зета), а также CD3-альфа (TCR-альфа) и CD3-бета (TCR-бета), индивидуально или в виде независимых комбинаций.

Термин "пептитело" относится к пептиду или полипептиду, который содержит менее чем полное

интактное антитело. Пептитело может представлять собой Fc-домен антитела, присоединенный по меньшей мере к одному пептиду. Пептитело не включает вариабельные области антитела, антитело-комбинирующий сайт, домены СН1 или домены константной области легкой цепи Ig.

Термин "встречающийся в природе" в отношении биологических материалов, таких как молекулы нуклеиновых кислот, полипептиды, клетки-хозяева и т.п., относится к таким материалам, присутствующим в природе и не модифицированным человеком.

Термин "домен" в настоящем документе относится к части молекулы или структуре, обладающей общими физическими или химическими свойствами, например, гидрофобные, полярные, глобулярные, спиральные домены или свойства, например, связывающий белок домен, ДНК-связывающий домен или АТФ-связывающий домен. Домены могут быть идентифицированы на основании гомологичности консервативным структурным или функциональным мотивам.

"Консервативная замена аминокислоты" представляет собой замену, при которой один остаток аминокислоты заменен на другой остаток аминокислоты с аналогичной боковой цепью. В данной области техники определены семейства остатков аминокислот, имеющих аналогичные боковые цепи, включая основные боковые цепи (например, лизин, аргинин, гистидин), кислые боковые цепи (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженные полярные боковые цепи (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярные боковые цепи (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета-разветвленные боковые цепи (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматические боковые цепи (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). Например, замена фенилаланина на тирозин представляет собой консервативную замену. Согласно некоторым вариантам реализации консервативные замены в последовательностях полипептидов и антител согласно настоящему изобретению не устраняют связывание полипептида или антитела, содержащего указанную последовательность аминокислот, с антигеном(ами), с которым(и) связывается указанный(ое) полипептид или антитело. Способы идентификации консервативных замен и неконсервативных замен нуклеотидов и аминокислот, не устраняющих связывание полипептидов или антигенов, хорошо известны в данной области техники (см., например, Brummell et al., *Biochem.* 32:1180-1187 (1993); Kobayashi et al., *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999); и Burks et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:412-417 (1997)).

"Модульный домен распознавания" (MRD), или "связывающий мишень пептид" представляет собой молекулу, такую как белок, гликопротеин и т.п., способную специфически (неслучайным образом) связываться с целевой молекулой. Как правило, допустима определенная степень вариабельности последовательности аминокислот MRD при сохранении некоторого уровня эффективности связывания целевой молекулы. Далее, изменения последовательности могут приводить к изменениям специфичности связывания и константы связывания между заданной целевой молекулой и сайтом связывания. Согласно одному варианту реализации указанный MRD представляет собой агонист мишени, которую он связывает. MRD-агонист относится к MRD, который каким-либо образом повышает или усиливает биологическую активность целевого белка MRD или обладает биологической активностью, сопоставимой с известным агонистом целевого белка MRD. Согласно еще одному варианту реализации MRD представляет собой антагонист мишени, которую он связывает. MRD-антагонист относится к MRD, блокирующему или каким-либо образом влияющему на биологическую активность целевого белка MRD или обладающих биологической активностью, сопоставимой с известным антагонистом или ингибитором целевого белка MRD.

"Рецептор клеточной поверхности" относится к молекулам и комплексам молекул, способным получать сигнал и передавать такой сигнал через плазматическую мембрану клетки. Примером рецептора клеточной поверхности согласно настоящему изобретению является активированный рецептор интегрина, например, активированный рецептор интегрина $\alpha\beta3$ на метастатической клетке. В настоящем документе "рецептор клеточной поверхности" также включает молекулу, экспрессируемую на поверхности клетки, которую может связывать MRD-содержащее антитело согласно настоящему изобретению.

В настоящем документе "сайт связывания мишени", или "нацеливающий сайт" представляет собой любую известную или еще не определенную последовательность аминокислот, обладающую способностью селективно связывать заданный агент. Примеры референсных целевых сайтов происходят из RGD-зависимых лигандов интегрина, а именно фибронектина, фибриногена, витронектина, фактора фон Виллебранда и т.п., клеточных рецепторов, таких как ErbB2, ФРЭС, сосудистый хоминг-пептид или ангиогенные цитокины, из белковых рецепторов гормонов, таких как рецептор инсулиноподобного фактора роста-1, рецептор эпидермального фактора роста и т.п., и из опухолевых антигенов.

Термин "эпитоп" или "антигенная детерминанта" используются в настоящем документе взаимозаменяемо и относятся к фрагменту любой молекулы, которые может распознаваться и специфически связываться конкретным связывающим агентом (например, антителом или MRD). Когда распознаваемая молекула представляет собой полипептид, эпитопы могут быть образованы непрерывными последовательностями аминокислот и не являющимися непрерывными последовательностями аминокислот и/или другими химически активными поверхностными группами молекул (таких как углеводы), сближенными за счет третичной укладки белка. Эпитопы, образованные непрерывными последовательностями аминокислот

кислот, как правило, сохраняются при денатурации белка, тогда как эпитопы, образованные за счет третичной укладки, как правило, утрачиваются при денатурации белка. Эпитоп, как правило, включает по меньшей мере 3, и чаще по меньшей мере 5 или 8-10 аминокислот в уникальной пространственной конформации.

Говорят, что антитело, MRD, антитело-содержащий MRD или другая молекула "конкурентно ингибирует" связывание референсной молекулы с определенным эпитопом, если она связывается с указанным эпитопом в степени, позволяющей ей блокировать, в некоторой степени, связывание референсной молекулы с указанным эпитопом. Конкурентное ингибирование может быть определено любым способом, известным в данной области техники, например, с применением конкурентного ИФА ELISA. В настоящем документе может говориться, что антитело, MRD, антитело-содержащий MRD или другая молекула конкурентно ингибирует связывание референсной молекулы с определенным эпитопом, например, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 60% или по меньшей мере на 50%.

Термин "белок" определен как биологический полимер, содержащий единицы, происходящие из аминокислот, связанных пептидными связями; белок может состоять из двух или большего количества цепей.

"Гибридный полипептид" представляет собой полипептид, состоящий по меньшей мере из двух полипептидов и, необязательно, соединяющей последовательности для функционального соединения указанных двух полипептидов в один непрерывный полипептид. Указанные два полипептида, соединенные в гибридный полипептид, как правило, происходят из двух независимых источников, и, соответственно, гибридный полипептид содержит два соединенных полипептида, обычно не соединенные в природе. Указанные два полипептида могут быть функционально соединены прямо посредством пептидной связи или могут быть соединены непрямо через линкер, описанный в настоящем документе, или другим известным в данной области техники способом.

Термин "функционально связаны" в настоящем документе указывает на то, что две молекулы соединены таким образом, что каждая из них сохраняет функциональную активность. Две молекулы "функционально связаны" независимо от того, соединены ли они прямо (например, гибридный белок) или непрямо (например, посредством линкера).

Термин "линкер" относится к пептиду, расположенному между антителом и MRD, или между двумя MRD. Длина линкеров может составлять приблизительно 1-20 аминокислот, приблизительно 2-20 аминокислот или приблизительно 4-15 аминокислот. Одна или большее количество указанных аминокислот могут быть гликозилированы, как будет ясно специалистам в данной области техники. Согласно одному варианту реализации указанные 1-20 аминокислот выбраны из глицина, аланина, пролина, аспарагина, глутамина и лизина. Согласно еще одному варианту реализации линкер состоит в основном из стерически не ограниченных аминокислот, таких как глицин и аланин. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанный линкер выбран из полиглицинов (например, (Gly)₅ и (Gly)₈), поли(Gly-Ala) и полиаланинов. Указанный линкер может также представлять собой непептидный линкер, такой как алкильный линкер, или ПЭГ-линкер. Например, могут применяться алкильные линкеры, такие как -NH-(CH₂)_s-C(O)-, где s=2-20. Указанные алкильные линкеры могут дополнительно быть замещены любой не ограниченной стерически группой, такой как низший алкил (например, C₁-C₆) низший ацил, галоген (например, Cl, Br), CN, NH₂, фенил и т.д. Примером непептидного линкера является ПЭГ-линкер. Согласно определенным вариантам реализации указанный ПЭГ-линкер имеет молекулярную массу, составляющую приблизительно от 100 до 5000 кДа, или приблизительно от 100 до 500 кДа. Пептидные линкеры могут быть изменены с получением производных. Согласно некоторым вариантам реализации указанный линкер представляет собой непептидный линкер, такой как алкильный линкер или ПЭГ-линкер. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный линкер представляет собой "расщепляемый линкер", способствующий высвобождению MRD или цитотоксического агента в клетке или поблизости от клетки.

"Целевая клетка" относится к любой клетке у субъекта (например, у человека или животного), на которую может быть нацелена мультиспецифическая и мультивалентная композиция (например, антитело-содержащие MRD) или MRD согласно настоящему изобретению. Указанная целевая клетка может представлять собой клетку, экспрессирующую или сверхэкспрессирующую сайт связывания мишени, такой как активированный рецептор интегрина.

Термин "иммунный ответ" относится к действию, например, лимфоцитов, антигенпрезентирующих клеток, фагоцитов, гранулоцитов и растворимых макромолекул, продуцируемых описанными выше клетками или печенью (включая антитела, цитокины и комплемент), которое приводит к селективному повреждению, разрушению или устранению из организма человека инвазивных патогенов, клеток или тканей, инфицированных патогенами, раковых клеток или, в случаях аутоиммунной реакции или патологического воспаления, нормальных клеток или тканей человека.

В настоящем документе термин "эффекторная клетка" относится к иммунной клетке, вовлеченной в эффекторную фазу иммунного ответа, в противоположность фазам распознавания и активации иммунного ответа. Примеры иммунных клеток включают клетку миелоидного или лимфоидного происхождения,

например, лимфоциты (например, В-клетки и Т-клетки, включая цитолитические Т-клетки (CTL)), клетки киллеры, естественные клетки киллеры, макрофаги, моноциты, эозинофилы, нейтрофилы, полиморфноядерные клетки, гранулоциты, тучные клетки и базофилы). Некоторые эффекторные клетки экспрессируют специфические Fc-рецепторы и выполняют специфические иммунные функции. Согласно определенным вариантам реализации эффекторная клетка способна индуцировать антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ), например, нейтрофил, способный индуцировать АЗКЦ. Например, моноциты и макрофаги, которые экспрессируют FcR, вовлечены в специфический киллинг целевых клеток и представление антигенов другим компонентам иммунной системы, или связывание с клетками, представляющими антигены. Согласно другим вариантам реализации эффекторная клетка может фагоцитировать целевой антиген или целевую клетку. Экспрессия конкретного FcR на эффекторной клетке может регулироваться гуморальными факторами, такими как цитокины. Например, было обнаружено, что экспрессия Fc-рецептора IgA (RI Fc-альфа) повышающе регулируется гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ) или гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором ГМ-КСФ. Указанная повышенная экспрессия усиливает эффекторную функцию клеток, несущих Fc-альфа RI, направленную против мишеней. Примеры функций эффекторной клетки включают фагоцитоз или лизис целевого антигена или целевой клетки. "Целевая клетка" относится к любой клетке или патогену, элиминация которой благоприятна для пациента (например, человека или животного) и на которую может быть нацелена композиция (например, антитело) согласно настоящему изобретению. "Пациент", "субъект", "животное" или "млекопитающее" используются взаимозаменяемо и относятся к млекопитающим, таким как пациенты-люди и не являющиеся человеком приматы, а также экспериментальным животным, таким как кролики, крысы и мыши, и другим животным. Животные включают всех позвоночных животных, например, млекопитающих и не являющихся млекопитающими животных, таких как овцы, собаки, коровы, куры, амфибии и рептилии. Согласно некоторым вариантам реализации указанный пациент представляет собой человека.

"Лечить" или "лечение" включает введение антитела, содержащего MRD согласно настоящему изобретению, для предотвращения или задержки появления симптомов, осложнений, или биохимических признаков заболевания, состояния или расстройства, облегчения симптомов, или остановки или ингибирования дальнейшего развития указанного заболевания, состояния или расстройства. Лечение может представлять собой профилактическое (для предотвращения или задержки появления указанного заболевания, или для предотвращения проявления его клинических или субклинических симптомов) или терапевтическое подавление или облегчение симптомов после проявления указанного заболевания, состояния или расстройства. Лечение может проводиться с применением только композиции с антителом и MRD, только MRD, или с применением комбинации любого из указанных вариантов с одним или большим количеством дополнительных терапевтических агентов.

В настоящем документе термины "фармацевтически приемлемый" или "физиологически переносимый", и их грамматические варианты, в отношении композиций, носителей, разбавителей и реагентов, используются взаимозаменяемо и означают, что указанные материалы могут быть введены человеку или применены к человеку без чрезмерных терапевтических нежелательных физиологических эффектов, таких как тошнота, головокружение, расстройство желудка и т.п.

"Модулировать" или "модулирует" означает корректировку или регуляцию амплитуды, частоты, степени или активности. Согласно другому родственному аспекту такая модуляция может быть положительной (например, повышение частоты, степени или активности) или отрицательной (например, снижение частоты, степени или активности).

Термины "рак (раковое заболевание)", "опухоль" или "злокачественное новообразование" используются как синонимы и относятся к любым из ряда заболеваний, характеризующихся неконтролируемой аномальной пролиферацией клеток, способностью пораженных клеток распространяться локально или через кровоток и лимфатическую систему в другие части организма (метастазировать), а также к любым из ряда характерных структурных и/или молекулярных признаков. Под "раковой опухолью" или "злокачественными клетками" понимается клетка, у которой имеются специфические структурные свойства, отсутствует дифференцировка и способная к инвазии и метастазированию. Примеры раковых заболеваний, лечение которых может проводиться с применением гибридов антитело-MRD согласно настоящему изобретению, включают солидные опухоли и гематологическое раковое заболевание. Дополнительные примеры раковых заболеваний, лечение которых может проводиться с применением гибридов антитело-MRD согласно настоящему изобретению, включают рак молочной железы, легкого, головного мозга, костей, печени, почки, толстой кишки, головы и шеи, яичников, гематопозитической системы (например, лейкоз), и рак предстательной железы. Дополнительные примеры раковых заболеваний, для лечения которых могут применяться мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), включают, не ограничиваясь перечисленными, карциному, лимфому, бластому, саркому и лейкоз. Более конкретные примеры таких раковых заболеваний включают плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого, плоскоклеточный рак легкого, рак брюшной полости, гепатоцеллюлярный рак, рак ЖКТ, рак поджелудочной железы, глиобластому, рак шейки матки, рак яичника, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молоч-

ной железы, рак толстой кишки, рак толстой и прямой кишки, рак эндометрия матки или матки, карциному слюнных желез, рак почки, рак печени, рак предстательной железы, рак вульвы, рак щитовидной железы, гепатокарциному и различные типы рака головы и шеи. Другие типы раковых заболеваний и опухолей, лечение которых может проводиться с применением мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), описаны в настоящем документе или известны из других источников в данной области техники.

"Эффективное количество" антитела, MRD или MRD-содержащего антитела согласно описанию в настоящем документе представляет собой количество, достаточное для достижения конкретной заявленной цели, например, обеспечения наблюдаемого изменения уровня одного или большего количества видов биологической активности, связанных с мишенью, с которой связывается указанное антитело, MRD или MRD-содержащее антитело. Согласно определенным вариантам реализации указанное изменение повышает уровень целевой активности. Согласно другим вариантам реализации указанное изменение снижает уровень целевой активности. "Эффективное количество" в отношении заявленной цели может быть определено эмпирически рутинным способом.

Термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству антитела, MRD, MRD-содержащего антитела, других мультивалентных и мультиспецифических лекарственных средств согласно настоящему изобретению, или другого лекарственного средства, эффективного для "лечения" заболевания или расстройства у пациента или млекопитающего. В случае ракового заболевания терапевтически эффективное количество лекарственного средства может уменьшать ангиогенез и неоваскуляризацию; уменьшать число раковых клеток; уменьшать размер опухоли; ингибировать (т.е. до некоторой степени замедлять или останавливать) инфильтрацию раковых клеток в периферические органы; ингибировать (т.е. до некоторой степени замедлять или останавливать) метастазирование опухолей; ингибировать, до некоторой степени, рост опухоли или частоту возникновения опухолей; стимулировать иммунный ответ против раковых клеток и/или облегчать до некоторой степени один или большее количество симптомов, связанных с раковым заболеванием. См. определение "лечения" в настоящем документе. "Терапевтически эффективное количество" также может относиться к количеству, эффективному, при необходимых дозировках и продолжительности применения, для достижения требуемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество композиции, предложенной в настоящем изобретении, может варьировать в зависимости от таких факторов, как статус заболевания, возраст, пол и масса индивидуума, и способности указанной композиции вызывать требуемый ответ у указанного индивидуума. Терапевтически эффективное количество представляет собой также такое количество, при использовании которого терапевтически благоприятные эффекты перевешивают какие-либо токсические или неблагоприятные эффекты указанной терапевтической композиции.

В тех случаях, когда указанное лекарственное средство может предотвращать рост и/или убивать существующие раковые клетки, оно может быть цитостатическим и/или цитотоксическим. "Профилактически эффективное количество" относится к количеству, эффективному, при необходимых дозировках и продолжительности применения, для достижения требуемого профилактического результата. Как правило, но не обязательно, поскольку профилактическая доза применяется у субъектов (пациентов) до заболевания или на более ранней стадии заболевания, указанное профилактически эффективное количество меньше, чем терапевтически эффективное количество.

В тех случаях, когда варианты реализации настоящего изобретения описаны в терминах группы Маркуша или других групп альтернатив, настоящее изобретение охватывает не только всю указанную группу в целом, но также и каждый член указанной группы по отдельности и все возможные подгруппы главной группы, а также главную группу, в которой отсутствует один или большее количество членов указанной группы. Настоящее изобретение также предусматривает явное исключение одной или большего количества любых членов группы в раскрытом и/или заявленном изобретении.

Модульные домены распознавания (Домены MRD)

В настоящем изобретении описан подход, основанный на получении связывающих мишени пептидов или модульных доменов распознавания (доменов MRD) в виде гибридов с каталитическими или некаталитическими антителами. Согласно определенным вариантам реализации, когда антитело-компонент гибрида MRD-антитело представляет собой каталитическое антитело, указанные гибриды MRD-антитело обеспечивают эффективное нацеливание на опухолевые клетки или растворимые молекулы, при полном сохранении способности к активации пролекарства каталитического антитела. Домены MRD могут также расширять связывающую способность некаталитических антител, обеспечивая эффективный подход к расширению связывающей способности антител, в частности, для терапевтических целей.

Один аспект настоящего изобретения относится к разработке полноразмерного антитела, содержащего по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD). Согласно еще одному неисключительному варианту реализации указанное полноразмерное антитело содержит более одного MRD, при этом указанные домены MRD обладают одинаковыми или разными видами специфичности. Кроме того, одиночный MRD может состоять из tandemного повтора одной или разных последовательностей аминокислот, который может обеспечивать связывание одного MRD с несколькими мишенями и/или с повторяющимся эпитопом на определенной мишени.

Взаимодействие между белковым лигандом и целевым рецепторным сайтом часто происходит на относительно большой площади поверхности. Однако только несколько ключевых остатков на указанной поверхности вносят вклад в большую часть связывания. Домены MRD могут имитировать связывание лиганда. Согласно определенным вариантам реализации указанный MRD может имитировать биологическую активность лиганда (агонист MRD) или путем конкурентного связывания ингибировать биологическую активность лиганда (MRD-антагонист). Домены MRD в мультивалентных и мультиспецифических композициях (например, MRD-содержащих антителах) могут также влиять на мишени другим образом, например, нейтрализуя, блокируя, стабилизируя, объединяя или перекрестно сшивая мишень MRD.

Предполагается, что домены MRD согласно настоящему изобретению обычно содержат пептидную последовательность, которая связывается с представляющими интерес целевыми сайтами и имеют длину, составляющую приблизительно от 2 до 150 аминокислот, приблизительно от 2 до 125 аминокислот, приблизительно от 2 до 100 аминокислот, приблизительно от 2 до 90 аминокислот, приблизительно от 2 до 80 аминокислот, приблизительно от 2 до 70 аминокислот, приблизительно от 2 до 60 аминокислот, приблизительно от 2 до 50 аминокислот, приблизительно от 2 до 40 аминокислот, приблизительно от 2 до 30 аминокислот, или приблизительно от 2 до 20 аминокислот. Предполагается также, что домены MRD имеют длину, составляющую приблизительно от 10 до 150 аминокислот, приблизительно от 10 до 125 аминокислот, приблизительно от 10 до 100 аминокислот, приблизительно от 10 до 90 аминокислот, приблизительно от 10 до 80 аминокислот, приблизительно от 10 до 70 аминокислот, приблизительно от 10 до 60 аминокислот, приблизительно от 10 до 50 аминокислот, приблизительно от 10 до 40 аминокислот, приблизительно от 10 до 30 аминокислот, или приблизительно от 10 до 20 аминокислот. Дополнительно предполагается, что домены MRD имеют длину, составляющую приблизительно от 20 до 150 аминокислот, приблизительно от 20 до 125 аминокислот, приблизительно от 20 до 100 аминокислот, приблизительно от 20 до 90 аминокислот, приблизительно от 20 до 80 аминокислот, приблизительно от 20 до 70 аминокислот, приблизительно от 20 до 60 аминокислот, приблизительно от 20 до 50 аминокислот, приблизительно от 20 до 40 аминокислот, или приблизительно от 20 до 30 аминокислот. Согласно определенным вариантам реализации длина указанных MRD составляет приблизительно от 2 до 60 аминокислот. Согласно другим вариантам реализации длина указанных MRD составляет приблизительно от 10 до 60 аминокислот. Согласно другим вариантам реализации длина указанных MRD составляет приблизительно от 10 до 50 аминокислот. Согласно дополнительным вариантам реализации длина указанных MRD составляет приблизительно от 10 до 40 аминокислот. Согласно дополнительным вариантам реализации длина указанных MRD составляет приблизительно от 10 до 30 аминокислот.

Согласно некоторым вариантам реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащие антитела) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-3} М, 10^{-3} М, 5×10^{-4} М, 10^{-4} М, 5×10^{-5} М, 10^{-5} М, 5×10^{-6} М, 10^{-6} М, 5×10^{-7} М, 10^{-7} М, 5×10^{-8} М, 10^{-8} М, 5×10^{-9} М, 10^{-9} М, 5×10^{-10} М, 10^{-10} М, 5×10^{-11} М, 10^{-11} М, 5×10^{-12} М, 10^{-12} М, 5×10^{-13} М, 10^{-13} М, 5×10^{-14} М, 10^{-14} М, 5×10^{-15} М или 10^{-15} М. Согласно одному варианту реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащие антитела) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-5} М. Согласно еще одному варианту реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащие антитела) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-8} М. Согласно еще одному варианту реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащие антитела) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-9} М. Согласно еще одному варианту реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащие антитела) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-10} М. Согласно еще одному варианту реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащие антитела) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-11} М. Согласно еще одному варианту реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащие антитела) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-12} М.

Согласно конкретным вариантам реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) связывают свои мишени со скоростью диссоциации(кой), составляющей менее 5×10^{-2} с⁻¹, 10^{-2} с⁻¹, 5×10^{-3} с⁻¹ или 10^{-3} с⁻¹. Предпочтительнее, если один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) связывают свои мишени со скоростью диссоциации(кой) составляющей менее 5×10^{-4} с⁻¹, 10^{-4} с⁻¹, 5×10^{-5} с⁻¹, или 10^{-5} с⁻¹, 5×10^{-6} с⁻¹, 10^{-6} с⁻¹, 5×10^{-7} с⁻¹ или 10^{-7} с⁻¹.

Согласно другим конкретным вариантам реализации один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-

содержащих антител) связывают свои мишени со скоростью связывания (коп), составляющей более $10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, $10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ или $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$. Предпочтительнее, если один или большее количество MRD-компонентов указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) связывают свои мишени со скоростью связывания (коп), составляющей более $10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, $10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, или $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, или $10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$.

Согласно некоторым вариантам реализации указанные домены MRD представляют собой белки Affibody. Белки Affibody представляют собой класс аффинных белков на основе белкового домена из 58 остатков аминокислот, происходящего из одного из IgG-связывающих доменов белка А стафилококка. Указанный трехспиральный домен использовался в качестве скаффолда для конструирования комбинаторных фагемидных библиотек, из которых варианты Affibody, которые связывают требуемую целевую молекулу, например, одну или большее количество мишеней, раскрытых в настоящем документе, могут быть выбраны рутинным способом с применением технологии фагового дисплея (см., например, Nord et al., Nat. Biotechnol. 15:772-7 (1997), и Ronmark et al., A, Eur. J. Biochem. 2002; 269:2647-55). Дальнейшая информация о белках Affibody и способах их получения приведена в виде ссылки на патент США № 5831012, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно другим вариантам реализации MRD согласно настоящему изобретению (например, MRD на MRD-содержащем антителе) содержит один или большее количество остатков аминокислот или последовательностей остатков аминокислот (включая их производные, аналоги и миметики), преимущественное нацеливание на которые обеспечивается химическими или другими процессами, ковалентно или нековалентно связывающими молекулярный объект с MRD, по сравнению с MRD без преимущественного нацеливания на последовательности или без антитела-компонента MRD-содержащего антитела. Например, согласно некоторым вариантам реализации указанная последовательность аминокислот MRD содержит один или большее количество остатков, имеющих реакционноспособную боковую цепь (например, цистеин или лизин), обеспечивающую селективное или преимущественное связывание указанного MRD с цитотоксическими агентами (например, конъюгатами лекарственных средств и пролекарств, токсинов и биологически активными лигандами) или агентами для визуализации. Применение указанных "связывающих" MRD для обеспечения MRD-содержащего антитела "нагрузкой" решает многие проблемы, связанные с дестабилизацией антитела и снижением активности антитела, часто наблюдавшихся при применении стандартных способов получения иммунотоксинов. Компонент "нагрузки" комплекса с MRD-содержащим антителом согласно настоящему изобретению может представлять собой любую композицию, обеспечивающую благоприятный терапевтический, диагностический или прогностический эффект, или обеспечивающую преимущество при получении, очищении или приготовлении состава с MRD-содержащим антителом. Согласно некоторым вариантам реализации указанная нагрузка представляет собой химиотерапевтическое лекарственное средство или пролекарство, такое как доксорубин, или майтансиноид-подобное лекарственное средство. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная нагрузка представляет собой другой MRD, токсин, химиотерапевтическое лекарственное средство, каталитический фермент, пролекарство, радиоактивный нуклид, хелатор (например, для присоединения лантаноидов) или другой компонент предложенных в настоящем изобретении мультивалентных и мультиспецифических композиций согласно описанию в настоящем документе.

Согласно неисключительным вариантам реализации указанный MRD не содержит антигенсвязывающего домена или другого домена антитела, такого как константная область, варибельная область, определяющая комплементарность область (CDR), каркасная область, Fc-домен или шарнирная область. Согласно одному неисключительному варианту реализации указанный MRD не содержит антигенсвязывающего домена. Согласно еще одному неисключительному варианту реализации указанный MRD не содержит трех областей CDR. Согласно еще одному неисключительному варианту реализации указанный MRD не содержит CDR1 и CDR2. Согласно еще одному неисключительному варианту реализации указанный MRD не содержит CDR1. Согласно одному неисключительному варианту реализации указанный MRD не происходит из природного клеточного лиганда. Согласно другому неисключительному варианту реализации указанный MRD не является радиоизотопом. Согласно другому неисключительному варианту реализации указанный MRD не является маркером экспрессии белка, таким как глутатион S-трансфераза (GST), His-метка, метка Flag, гематоглинин (ГА), метка MYC или флуоресцентный белок (например, GFP или RFP). Согласно другому неисключительному варианту реализации указанный MRD не связывает сывороточный альбумин. Согласно дополнительному неисключительному варианту реализации указанный MRD не является малой молекулой, которая представляет собой цитотоксин. Согласно еще одному неисключительному варианту реализации указанный MRD не обладает ферментативной активностью. Согласно еще одному неисключительному варианту реализации MRD при введении отдельно и/или в соединенном с Fc виде оказывает терапевтический эффект на пациента или в модели на животных. Согласно еще одному неисключительному варианту реализации MRD при неоднократном введении отдельно и/или в соединенном с Fc виде оказывает терапевтический эффект на пациента или в модели на животных (например, 3 или более раз на протяжении курса продолжительностью по меньшей мере шесть месяцев).

Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD конформационно ограничен. Согласно другим вариантам реализации указанный MRD конформационно не ограничен. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD содержит один остаток цистеина. Указанный остаток цистеина в MRD может формировать межцепочечную связь (например, между цистеинами в одном MRD, между разными связанными пептидной связью доменами MRD, и между MRD и связанным пептидной связью иммуноглобулином). Согласно некоторым вариантам реализации MRD, вовлеченный(ые) в указанную межцепочечную связь, связан(ы) с единственным коровым связывающим мишень доменом. Согласно другим вариантам реализации домен(ы) MRD, вовлеченный(ые) в межцепочечную связь, связан(ы) с несколькими коровыми связывающими мишень доменами. Согласно альтернативному варианту реализации остаток цистеина в MRD может образовывать межцепочечную связь (например, между цистеинами связанных непептидной связью доменов MRD, или MRD и иммуноглобулина, не связанных пептидной связью). Согласно некоторым вариантам реализации домен(ы) MRD, связанный(ые) межцепочечной связью, связан(ы) с единственным коровым связывающим мишень доменом (т.е. 2 домена MRD, расположенные на разных полипептидных цепях, образуют одну или большее количество межцепочечных связей и в совокупности образуют один сайт связывания мишени). Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, отличающиеся тем, что домены MRD, расположенные на карбоксильном конце тяжелой цепи, взаимодействуют (например, посредством дисульфидной связи) с образованием единственного сайта связывания мишени. Согласно другим вариантам реализации указанный(ые) MRD, связанный(ые) межцепочечной связью, связан(ы) с несколькими коровыми связывающими мишень доменами. Как вариант, согласно описанию в настоящем документе, MRD может содержать один или большее количество остатков цистеина (или других остатков, имеющих реакционно-способную боковую цепь (например, лизина)), обеспечивающий селективное или преимущественное связывание MRD с цитотоксическим агентом. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD содержит два остатка цистеина вне корового связывающего мишень домена. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD содержит два остатка цистеина, расположенные в пределах корового связывающего мишень домена на каждом конце указанного связывающего мишень домена. Согласно некоторым вариантам реализации первый цистеин расположен возле конца молекулы (т.е. на С-конце домена MRD на С-конце линкера или цепи антитела, или на N-конце домена MRD на N-конце линкера или цепи антитела). Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации первый цистеин расположен в пределах одной аминокислоты, в пределах двух аминокислот, в пределах трех аминокислот, в пределах четырех аминокислот, в пределах пяти аминокислот, или в пределах шести аминокислот от конца молекулы. Согласно некоторым вариантам реализации второй цистеин расположен возле локализации гибрида MRD (т.е. на N-конце домена MRD на С-конце линкера или цепи антитела или на С-конце домена MRD на N-конце линкера или цепи антитела). Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации второй цистеин расположен в пределах одной аминокислоты, в пределах двух аминокислот, в пределах трех аминокислот, в пределах четырех аминокислот, в пределах пяти аминокислот, в пределах 10 аминокислот или в пределах 15 аминокислот от MRD-гибрида.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD экпирован стабильными остатками. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD экпирован дисульфидом. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD не содержит сайтов расщепления.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD выбран таким образом, что он не содержит известных потенциальных Т-клеточных эпитопов человека. Согласно некоторым конкретным вариантам реализации указанный MRD обладает конкретной гидрофобностью. Например, гидрофобность доменов MRD может сравниваться на основании времени удержания, определенного с применением хроматографии гидрофобного взаимодействия или жидкостной хроматографии с обращенной фазой.

Мишень MRD может представлять собой любую молекулу, взаимодействие MRD-содержащего антитела с которой является желательным. Например, мишень MRD может представлять собой растворимый фактор или трансмембранный белок, такой как рецептор клеточной поверхности. Мишень MRD может также представлять собой внеклеточный компонент или внутриклеточный компонент. Согласно определенным неисключительным вариантам реализации мишень MRD представляет собой фактор, который регулирует пролиферацию, дифференцировку или выживаемость клеток. Согласно другим неисключительным вариантам реализации мишень MRD представляет собой цитокин. Согласно другому неисключительному варианту реализации мишень MRD представляет собой фактор, который регулирует ангиогенез. Согласно другому неисключительному варианту реализации мишень MRD представляет собой фактор, который регулирует клеточную адгезию и/или межклеточные взаимодействия. Согласно определенным неисключительным вариантам реализации мишень MRD представляет собой молекулу клеточной сигнализации. Согласно другому неисключительному варианту реализации мишень MRD представляет собой фактор, который регулирует одну или большее количество иммунных реакций, таких как аутоиммунная реакция, воспаление и иммунный ответ против раковых клеток. Согласно другому неисключительному варианту реализации мишень MRD представляет собой фактор, который регулирует клеточную адгезию и/или межклеточные взаимодействия. Согласно дополнительному неисключительному варианту реализации мишень MRD представляет собой молекулу клеточной сигнализации. Согласно

но еще одному варианту реализации MRD может связывать мишень, которая сама представляет собой MRD. Способность доменов MRD связывать мишень и блокировать, увеличивать или влиять на биологическую активность целевого MRD может быть определена с применением или путем рутинной модификации известных в данной области техники анализов, биологических анализов и/или моделей на животных для оценки такой активности.

Домены MRD способны связывать соответствующую им мишень, когда они присоединены к анти телу. Согласно некоторым вариантам реализации MRD способен связывать соответствующую ему мишень, когда он не присоединен к анти телу. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD представляет собой агонист мишени. Согласно другим вариантам реализации указанный MRD представляет собой антагонист мишени. Согласно определенным вариантам реализации указанный MRD может применяться для локализации MRD-содержащего анти тела в области, где расположена мишень MRD. Последовательность MRD может быть определена несколькими способами. Например, последовательности MRD может происходить из природных лигандов или известных последовательностей, которые связываются со специфическим сайтом связывания мишени. Кроме того, появились технологии фагового дисплея, обеспечивающие эффективный метод идентификации пептидов, которые связываются с целевыми рецепторами и лигандами. В пептидных библиотеках с фаговым дисплеем встречающиеся в природе и не встречающиеся в природе последовательности (например, случайные пептидные последовательности) могут быть экспонированы путем слияния с белками оболочки нитевидного фага. Способы выявления сайтов связывания на полипептидах с применением векторов фагового дисплея были описаны ранее, в частности, в WO94/18221, которая включена в настоящий документ посредством ссылки. Указанные способы в общем включают применение экспрессионной векторной системы на основе поверхности нитевидного фага (фагмиды) для клонирования и экспрессирования полипептидов, которые связываются с заданным представляющим интерес нацеливающим сайтом. Способы получения доменов MRD согласно настоящему изобретению включают применение векторов фагового дисплея ввиду их особого преимущества, заключающегося в возможности скрининга очень большой популяции экспрессируемых экспонируемых белков и, таким образом, локализации одного или большего количества специфических клонов, кодирующих требуемую реакционную способность в отношении связывания мишени. Способность полипептидов, кодируемых указанными клонами, связывать мишень и/или изменять биологическую активность мишени может быть определена с применением или путем рутинной модификации анализов и другие методик, описанных в настоящем документе или известных из других источников в данной области техники. Например, для идентификации и улучшения связывающих свойств доменов MRD может применяться технология фагового дисплея. См., например, Scott et al., *Science* 249:386 (1990); Devlin et al., *Science* 249:404 (1990); патенты США № 5223409, 5733731, 5498530, 5432018, 5338665, 5922545; и международные заявки на патент № WO96/40987 и № WO98/15833; включенные в настоящий документ посредством ссылки. В пептидных библиотеках с фаговым дисплеем природные и/или не встречающиеся в природе пептидные последовательности могут быть экспонированы путем слияния с белками оболочки нитевидного фага. При необходимости может быть проведено аффинное элюирование экспонированных пептидов против представляющей интерес мишени. Оставшийся фаг может быть обогащен путем проведения последовательных циклов аффинной очистки и повторного размножения. Наилучшим образом связывающие мишень пептиды могут быть секвенированы для идентификации ключевых остатков в пределах одного или нескольких структурно родственных семейств пептидов. См., например, Swirla et al., *Science* 276:1696-9 (1997), в которых были идентифицированы два отдельных семейства. Пептидные последовательности могут также позволить предположить, какие остатки могут быть безопасно удалены путем аланинового сканирования или путем мутагенеза на уровне ДНК. Могут быть созданы библиотеки мутагенеза и проведен их скрининг для дополнительной оптимизации последовательности наилучших связывающих веществ. Lowman, *Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 26:401-424 (1997).

Структурный анализ белок-белковых взаимодействий может также использоваться для прогнозирования пептидов, которые имитируют связывающую активность больших белковых лигандов. В таком анализе по кристаллической структуре можно идентифицировать большой белковый лиганд, из которого может быть сконструирован пептид, например, MRD, и определить взаимную ориентацию его ключевых остатков. См., например, Takasaki et al., *Nature Biotech.* 15:1266-1270 (1997). Указанные аналитические способы могут также использоваться для исследования взаимодействия между мишенью и MRD, отобранным с помощью фагового дисплея, которое может предусматривать дополнительную модификацию доменов MRD для увеличения сродства к связыванию.

Другие известные в данной области техники способы могут применяться для идентификации доменов MRD. Например, пептидная библиотека может быть соединена с карбоксильным концом ла-репрессора и экспрессирована в *E. coli*. Другой способ на основе *E. coli* позволяет обеспечить дисплей на внешней мембране клеток путем слияния с ассоциированным с пептидогликаном липопротеином (PAL). Указанные и родственные им способы в совокупности называют "дисплеем *E. coli*". В другом способе трансляцию случайной РНК останавливают до высвобождения с рибосомы, что приводит к получению библиотеки полипептидов, к которым по-прежнему присоединены ассоциированные РНК. Указанные и родственные способы в совокупности называют "рибосомным дисплеем". Другие известные способы

задействуют химическое связывание пептидов с РНК. См., например, Roberts and Szostak, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:12297-12303 (1997). Указанный способ и родственные способы в совокупности называют "РНК-пептидный скрининг, РНК-дисплей и мРНК-дисплей". Были разработаны полученные химическим путем пептидные библиотеки, в которых пептиды иммобилизованы на стабильных небиологических материалах, таких как полиэтиленовые стержни или проницаемые для растворителя смолы. В другой химически полученной пептидной библиотеке применяется фотолитография для сканирования пептидов, иммобилизованных на стеклянных пластинах. Указанные и родственные им способы в совокупности называют "химическим пептидным скринингом". Химический пептидный скрининг может обладать преимуществом, позволяя применять D-аминокислоты и другие неприродные аналоги, а также непептидные элементы. Обзор биологических, и химических способов приведен у Wells and Lowman, *Curr. Opin. Biotechnol.* 3:355-362 (1992). Кроме того, библиотеки с ограничениями конформации, линейные библиотеки и/или направленные библиотеки (состоящие из структурно родственных доменов, обладающих значимой гомологией первичной последовательности) могут применяться для идентификации, описания и модификации доменов MRD. Усовершенствованный MRD, который специфически связывает требуемую мишень, может также быть получен на основе известной последовательности MRD. Например, в известную последовательность MRD могут быть введены по меньшей мере одна, два, три, четыре, пять или большее число мутаций аминокислот (например, консервативных или неконсервативных замен), удалений или вставок, и может быть проведен скрининг полученного MRD на связывание с требуемой мишенью и биологическую активность, такую как способность антагонизировать целевую биологическую активность или агонизировать целевую биологическую активность. Согласно еще одному варианту реализации обеспечивают аффинное созревание сайтов, выбранных для модификации, с применением известной в данной области техники фагового дисплея. См., например, Lowman, *Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 26:401-424 (1997).

Для модификации индивидуальных нуклеотидов в последовательности ДНК, с целью добавления(ий), замены(ы) или удаления(ий) аминокислот(ы) в последовательности антитела или для получения/удаления сайтов рестрикции и последовательностей, кодирующих требуемые аминокислоты (например, цистеин) для облегчения дальнейших манипуляций, может применяться любая техника мутагенеза, известная в данной области техники. Такие техники включают, не ограничиваясь перечисленными, химический мутагенез, сайт-специфический мутагенез *in vitro* (Kunkel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:488 (1985); Hutchinson et al., *J. Biol. Chem.* 253:6551 (1978)), олигонуклеотид-направленный мутагенез (Smith, *Ann. Rev. Genet.* 19:423-463 (1985); Hill et al., *Methods Enzymol.* 155:558-568 (1987)), мутагенез на основе ПНР с перекрывающимися праймерами (Ho et al., *Gene* 77:51-59 (1989)), мутагенез на основе ПНР с использованием мегапраймеров (Sarkar et al., *Biotechniques* 8:404-407 (1990)) и т.д. Модификации могут быть подтверждены путем секвенирования ДНК.

Дополнительные гибридные белки могут быть получены с использованием техник шаффлинга генов, шаффлинга мотивов, шаффлинга экзонов и/или шаффлинга кодонов (в совокупности называемых "шаффлингом ДНК"). Шаффлинг ДНК может применяться для изменения активности SYNAGIS® или его фрагментов (например, антитело или его фрагмент с большей аффинностью и меньшими скоростями диссоциации). См., в целом, источники: патенты США № 5605793, 5811238, 5830721, 5834252 и 5837458, и Patten et al., *Curr. Opin. Biotechnol.* 8:724-33 (1997); Harayama et al., *Trends Biotechnol.* 16(2):76-82 (1998); Hansson et al., *J. Mol. Biol.* 287:265-76 (1999); Lorenzo et al., *Biotechniques* 24(2):308-313 (1998); опубликованные заявки на патент США № 20030118592 и 200330133939; и опубликованную международную заявку № WO02/056910; каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Кроме того, домены MRD могут быть идентифицированы на основе оказываемых ими эффектов в анализах для оценки конкретных путей или типов активности. Например, анализы для оценки сигнальных путей (например, исследования фосфорилирования или мультимеризации), тока через ионные каналы, внутриклеточных уровней цАМФ, клеточной активности, например, миграции, адгезии, пролиферации или апоптоза; проникновения, репликации, баддинга или интеграции вируса могут применяться для идентификации, описания и усовершенствования доменов MRD.

В объем настоящего изобретения входят варианты и производные доменов MRD, сохраняющие способность связывать целевой антиген. Во варианты включены варианты со вставками, удалениями и заменами, а также варианты, включающие домены MRD, представленные в настоящем документе, с дополнительными аминокислотами на N-конце и/или C-конце, включающими приблизительно от 0 до 50, от 0 до 40, от 0 до 30, от 0 до 20 аминокислот и т.п. Следует понимать, что конкретный MRD согласно настоящему изобретению может быть модифицирован таким образом, чтобы содержать варианты одного, двух или всех трех типов. Варианты со вставками и заменами могут включать природные аминокислоты, нестандартные аминокислоты, или и первые, и вторые. Согласно некоторым вариантам реализации MRD содержит последовательность, отличающуюся не более чем на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 или 20 аминокислот от последовательности MRD, описанной в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации указанные аминокислотные отличия представляют собой замены. Указанные замены могут быть консервативными или неконсервативными в природе и могут включать нестандартные или

не встречающиеся в природе аминокислоты. Согласно другим вариантам реализации указанный MRD содержит последовательность, которая конкурентно ингибирует способность MRD-содержащей последовательности, описанной в настоящем документе, связываться с целевой молекулой. Способность домена MRD конкурентно ингибировать другую MRD-содержащую последовательность может быть определена с применением известных в данной области техники техник, включая анализ ELISA и BIAcore.

Способность домена MRD связывать соответствующую ему мишень может оцениваться с применением любой техники оценки молекулярного взаимодействия. Например, взаимодействие MRD-мишень может быть проанализировано согласно описанию в примерах ниже или, как вариант, с применением анализов связывания *in vitro* или *in vivo*, таких как вестерн-блоттинг, радиоиммунологический анализ, ИФА ELISA (твердофазный иммуоферментный анализ), "сэндвич"-иммуноанализ, иммунопреципитационный анализ, флуоресцентный иммуноанализ, иммуноанализ с белком А и иммуногистохимический анализ (ИГХ). Для непрямой оценки взаимодействия MRD-мишень могут также применяться анализы для определения способности домена MRD функционально влиять на его мишень (например, анализы для измерения сигнализации, пролиферации, миграции и т.д.).

Усовершенствованный MRD, имеющий конкретный период полувыведения *in vivo*, может также быть получен на основе известной последовательности MRD. Например, в известную последовательность MRD могут быть введены по меньшей мере одна, два, три, четыре, пять или более мутаций аминокислот (например, консервативные или неконсервативные замены), удалений или вставок, и может быть проведен скрининг полученного MRD для определения увеличенного периода полувыведения. Соответственно, в мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) могут быть включены варианты и производные доменов MRD, сохраняющие способность связывать мишень и имеющие увеличенный период полувыведения. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации домен MRD в MRD-содержащем антителе имеет период полувыведения, составляющий по меньшей мере приблизительно 5, по меньшей мере приблизительно 10, по меньшей мере приблизительно 15, по меньшей мере приблизительно 20, по меньшей мере приблизительно 25, по меньшей мере приблизительно 30, по меньшей мере приблизительно 35, по меньшей мере приблизительно 40, по меньшей мере приблизительно 45, по меньшей мере приблизительно 50, по меньшей мере приблизительно 55, по меньшей мере приблизительно 60, по меньшей мере приблизительно 65, по меньшей мере приблизительно 70, по меньшей мере приблизительно 75, по меньшей мере приблизительно 80, по меньшей мере приблизительно 85, по меньшей мере приблизительно 90, по меньшей мере приблизительно 95, по меньшей мере приблизительно 100, по меньшей мере приблизительно 110, по меньшей мере приблизительно 120, по меньшей мере приблизительно 130, по меньшей мере приблизительно 140 или по меньшей мере приблизительно 150 ч. Согласно некоторым вариантам реализации домен MRD в MRD-содержащем антителе имеет период полувыведения, составляющий по меньшей мере приблизительно 5, по меньшей мере приблизительно 10, по меньшей мере приблизительно 15, по меньшей мере приблизительно 20, по меньшей мере приблизительно 25, по меньшей мере приблизительно 30, по меньшей мере приблизительно 35, по меньшей мере приблизительно 40, по меньшей мере приблизительно 45, по меньшей мере приблизительно 50, по меньшей мере приблизительно 55, по меньшей мере приблизительно 60, по меньшей мере приблизительно 65, по меньшей мере приблизительно 70, по меньшей мере приблизительно 75, по меньшей мере приблизительно 80, по меньшей мере приблизительно 85, по меньшей мере приблизительно 90, по меньшей мере приблизительно 95, по меньшей мере приблизительно 100, по меньшей мере приблизительно 110, по меньшей мере приблизительно 120, по меньшей мере приблизительно 130, по меньшей мере приблизительно 140 или по меньшей мере приблизительно 150 ч. После установления последовательности MRD могут быть получены пептиды с помощью любых известных в данной области техники способов. Например, пептиды MRD могут быть химически синтезированы и функционально соединены с антителом, или могут быть синтезированы с применением рекомбинантной технологии. Например, домены MRD могут быть синтезированы в растворе или на твердой подложке с применением известных техник. Коммерчески доступны и могут применяться в соответствии с известными протоколами различные автоматические установки для синтеза. См., например, Tam et al., J. Am. Chem. Soc. 105:6442 (1983); Merrifield, Science 232:341-347 (1986); Barany and Merrifield, The Peptides, Gross and Meienhofer, eds, Academic Press, New York, 1-284; Barany et al., Int. J. Pep. Protein Res., 30:705-739 (1987); и патент США № 5424398, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Могут быть синтезированы домены MRD с ковалентно присоединенными молекулами, не являющимися аминокислотами, но способствующими очищению, идентификации и/или отслеживанию домена MRD *in vitro* или *in vivo* (например, биотином для реакции с авидином или мечеными авидином молекулами). Ниже, исключительно в качестве примеров, более подробно описаны мишени MRD. Согласно некоторым описанным в настоящем документе вариантам реализации MRD нацелен на интегрин. Роль интегринов, таких как $\alpha\upsilon\beta 3$ и $\alpha\upsilon\beta 5$, как опухолассоциированных маркеров была подробно описана. Недавнее исследование 25 перманентных устойчивых клеточных линий человека, полученных из распространенного рака яичника, продемонстрировало, что все линии были положительными по экспрессии

$\alpha v\beta 5$ и многие были положительными по экспрессии $\alpha v\beta 3$. Исследования также показали, что $\alpha v\beta 3$ и $\alpha v\beta 5$ интенсивно экспрессируются в тканях злокачественных опухолей шейки матки человека.

Интегрины также демонстрировали терапевтические эффекты в моделях саркомы Капоши, меланомы и рака молочной железы на животных.

Ряд антагонистов интегринов $\alpha v\beta 3$ и $\alpha v\beta 5$ находится в клинической разработке. Указанные антагонисты включают циклические RGD-пептиды и синтетические миметики RGD - малые молекулы. Два антагониста интегринов на основе антител в настоящий момент проходят клинические испытания для лечения раковых заболеваний. Первое представляет собой витаксин (VITAXIN®, MEDI-522, Abegrein), гуманизованную форму антитела мыши LM609 против $\alpha v\beta 3$ человека. Исследование I фазы по эскалации дозы у пациентов с раковыми заболеваниями продемонстрировали, что VITAXIN® безопасен для применения у человека. Другое антитело, проходящее клинические испытания, представлено CNT095, полностью человеческим антителом, распознающим интегрины αv . Исследование I фазы антитела CNT095 у пациентов с различными солидными опухолями показало, что оно хорошо переносится. Была также подтверждена в испытаниях I фазы безопасность циленгитида (EMD 121974), пептидного антагониста $\alpha v\beta 3$ и $\alpha v\beta 5$. Также проводились многочисленные исследования лекарственных средств направленного воздействия и визуализация на основе применения лигандов указанных рецепторов. Указанные доклинические и клинические наблюдения демонстрируют важность направленного воздействия на $\alpha v\beta 3$ и $\alpha v\beta 5$, и исследования, включавшие применение антител в указанной стратегии, стабильно подтверждали, что направленное воздействие через указанные интегрины безопасно. Также продолжаются клинические испытания антагонистов, нацеленных на $\alpha 5v\beta 1$, для лечения метастатической меланомы, почечно-клеточной карциномы и немелкоклеточного рака легкого (M200 (волоциксимаб)) и злокачественной глиомы (ATN-161).

Примером доменов MRD согласно настоящему изобретению являются интегрин-связывающие домены MRD, содержащие один или большее количество мотивов с трипептидной последовательностью RGD. Хорошо известны лиганды, содержащие мотив RGD в качестве минимального домена распознавания, из которых могут быть получены MRD согласно настоящему изобретению; их неполный перечень включает (соответствующие целевые интегрины указаны в скобках) фибронектин ($\alpha 3\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha v\beta 1$, $\alpha 11\beta 3$, $\alpha v\beta 3$ и $\alpha 3\beta 1$) фибриноген ($\alpha M\beta 2$ и $\alpha 11\beta 1$), фактор фон Виллебранда ($\alpha 11\beta 3$ и $\alpha v\beta 3$) и витронектин ($\alpha 11\beta 3$, $\alpha v\beta 3$ и $\alpha v\beta 5$).

Согласно одному варианту реализации указанные содержащие RGD направленные MRD выбраны из группы, состоящей из:

YCRGDCT (SEQ ID NO:3); PCRGDCL (SEQ ID NO:4); TCRGDCY (SEQ ID NO:5); и LCRGDCF (SEQ ID NO:6).

MRD, имитирующий RGD-независимый сайт связывания на рецепторе интегрина и обладающий в отношении связывания мишени специфичностью высокоаффинного лиганда, который распознает выбранный интегрин, также охвачен настоящим изобретением. Также включены домены MRD, которые связываются с рецептором интегрина и нарушают связывание и/или сигнальную активность интегрина. Согласно некоторым вариантам реализации MRD нацелен на ангиогенную молекулу. Ангиогенез критически важен для многих физиологических и патологических процессов. Было показано, что Ang2 действует как проангиогенная молекула. Введения селективных ингибиторов Ang2 достаточно для подавления как опухолевого ангиогенеза, так и ангиогенеза рогаговицы. Соответственно, ингибирование только Ang2 или ингибирование Ang2 в сочетании с ингибированием других ангиогенных факторов, таких как ФРЭС, может представлять собой эффективную антиангиогенную стратегию для лечения пациентов с солидными опухолями.

Предполагается, что домены MRD, подходящие для настоящего изобретения, включают домены MRD, которые связываются с ангиогенными рецепторами, ангиогенными факторами и/или ангиопоэтином 2 Ang2. Согласно конкретному варианту реализации MRD согласно настоящему изобретению связывает Ang2. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный связывающий TIE2 компонент содержит фрагмент ANG2, который связывает TIE2. Согласно конкретным вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении связывают TIE2 и содержат аминокислоты 283-449 ANG2 человека, приведенного в референсной последовательности NCBI № NP_001138.1. Согласно одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает Ang2 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO:136-619 и 620, приведенных в табл. 10. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание Ang2 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 136-619 и 620. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпипептом Ang2, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 136-619 и 620.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-

содержащее антитело, которое(ый) связывает Ang2 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из:

DCFWYPNPEWCY (ANG100; SEQ ID NO:621); KCPLLPDWASCH (ANG99; SEQ ID NO:622); TCQDYFPWRYCH (ANG53; SEQ ID NO:623); DCYF YPNPPHCY (ANG57; SEQ ID NO:624); PHEECYFYPNPPHCYTMS (ANG318; SEQ ID NO:625); DCAVYPNPPWCYKMEFGK (ANG202; SEQ ID NO: 626); RPILCPLLPDW ISCHEWL (ANG205; SEQ ID NO:627); и LWDDCYFFPNPPHCYNP (ANG200; SEQ ID NO:628).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание Ang2 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 621-627 и 628. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом Ang2, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 621-627 и 628.

Согласно одному варианту реализации MRD и/или MRD-содержащее антитело связывает Ang2 и содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

GAQTNFMPMDLEQRLYEQFI LQQGLE (SEQ ID NO:9) (ANGa); LWDDCYFFP NPPHCYNP (SEQ ID NO:11) (ANGb); LWDDCYSYPNPPHCYNP (SEQ ID NO:12) (ANGc); LWDDCYSFPNPPHCYNP (SEQ ID NO:15) (ANGd); DCAVYPNPPWCYKME FGK (SEQ ID NO:16) (ANGe); PHEECYFY PNPPHCYTMS (SEQ ID NO:17) (ANGf); и PHEECYSYPNPPHCYTMS (SEQ ID NO:18) (ANGg).

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит связывающий ANG-2 пептид, раскрытый в патентах США №7309483, 7205275, 7138370 7063965, 7063840, 7045302, 7008781, 6825008, 6645484, 6627415, 6455035, 6441137, 6433143, 6265564, 6166185, 5879672, 5814464, 5681714, 5650490, 5643755 и 5521073; и опубликованных заявках на патент США № 2007/0225221, 2007/0093419, 2007/0093418, 2007/0072801, 2007/0025993, 2006/0122370, 2005/0186665, 2005/0175617, 2005/0106099, 2005/0100906, 2003/0236193, 2003/0229023, 2003/0166858, 2003/0166857, 2003/0162712, 2003/0109677, 2003/0092891, 2003/0040463, 2002/0173627 и 2002/0039992, и опубликованных международных заявках № WO2006/005361, WO/2006/002854, WO2004/092215, WO/2004/076650, WO2003/057134, WO/2000/075323, WO2000/065085, WO/1998/018914 или WO1995/021866, содержание каждой из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит MRD, который преимущественно связывает ангиопозтин 2 (ANG2), а не ANG1 и ANG4. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит MRD, имеющий последовательность, выбранную из группы, состоящей из: ANG100 (SEQ ID NO: 621), ANG156 (SEQ ID NO: 255), ANG318 (SEQ ID NO: 625) и ANG599 (SEQ ID NO: 367). Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит MRD, который преимущественно связывает ANG1 и ANG2, а не ANG4. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит MRD, имеющий последовательность, выбранную из группы, состоящей из: ANG126 (SEQ ID NO: 232), ANG129 (SEQ ID NO: 234), ANG179 (SEQ ID NO: 270), ANG200 (SEQ ID NO: 628), ANG303 (SEQ ID NO: 331) и ANG335 (SEQ ID NO: 332). Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит MRD, который связывает ANG1, ANG2 и ANG4. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит MRD, имеющий последовательность ANG335 (SEQ ID NO: 332). MRD-содержащие антитела, которые конкурируют за связывание ANG1, ANG2 и/или ANG4 с одним или большим количеством из указанных выше доменов MRD и/или MRD-содержащих антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD нацелен на фактор роста эндотелия сосудов (ФРЭС). Согласно одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ФРЭС и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 629-691 и 692, приведенных в табл. 11. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ФРЭС с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO:629-691 и 692. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ФРЭС, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO:629-691 и 692.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-

содержащее антители, которое(ый) связывает ФРЭС и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из:

ACVKQVPWWLCI (VGF5; SEQ ID NO:693); TCWKPTPWWLCD (VGF26; SEQ ID NO:694); WCNLFPPNYPCY (VGF57; SEQ ID NO:695); GCVKEAPWWLCV (VGF61; SEQ ID NO:696); и WCNLFPANYPY (VGF50; SEQ ID NO:697).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ФРЭС с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO:693-696 и 697. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ФРЭС, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO:693-696 и 697. Согласно одному варианту реализации гибрида антитело-MRD содержит MRD с последовательностью ATWLPPP (SEQ ID NO:71), который ингибирует ФРЭС-опосредованный ангиогенез. Binetruy-Tournaire et al., EMBO J. 19:1525-1533 (2000). Согласно дополнительным вариантам реализации настоящим изобретением охвачено антитело против ФРЭС, содержащее MRD, нацеленный на ФРЭС. Описание антител против ФРЭС можно найти, например, в источниках: Presta et al., Cancer Research 57:4593-4599 (1997); и Fuh et al., J. Biol. Chem. 281:10 6625 (2006), каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. В настоящем изобретении могут также применяться специфические в отношении рИФР-1 домены MRD. Согласно одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает рИФР-1 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO:698-1149 и 1150, приведенных в табл. 12. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание рИФР-1 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: NO: 698-1149 и 1150. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом рИФР-1, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: NO: 698-1149 и 1150.

Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание рИФР-1 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из:

LCKEFPELCF (ИФР-252; SEQ ID NO:1151); QPWEGYSWLY (IGF71; SEQ ID NO:1152); RITPSDLCKEPELCF (IGF550; SEQ ID NO:1153); GFHHAYYKY RGQAGQGSATGGSSRITPSDLCKEPELCF (ИФР-2044; SEQ ID NO:1154); LCHGYPWYGPCQGQAGQGSATGGSGSTAS SRITPSDLCKEPELCF (ИФР-2037; SEQ ID NO:1155); GSWCDHYPQPVMLGQAG QGSATGGSSRITPSDLCKEPELCF (ИФР-2039 SEQ ID NO:1156); и TFENAL YCLAYGICDKITLI (ИФР-2045; SEQ ID NO:1157).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание рИФР-1 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 1151-1156 и 1157. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом рИФР-1, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: SEQ ID NO: 1151-1156 и 1157.

Предусматривается также применение в настоящем изобретении специфических в отношении сосудистого хоминг-пептида доменов MRD. В ряде исследований была описана эффективность соединения сосудистого хоминг-пептида с другими белками, подобными ИЛ-12, или с лекарственными средствами для их направленной доставки у живых животных.

Множество других сайтов связывания мишени включены в качестве мишеней гибридов антитело-MRD согласно настоящему изобретению, в том числе, например, рецептор ФРФ-1 (рФРФ-1), рецептор ФРФ-2 (рФРФ-2), рЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, CD20, рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 и рецептор фактора роста гепатоцитов. Домены MRD могут быть направлены на указанные сайты связывания мишени или соответствующие лиганды.

Согласно одному варианту реализации указанный MRD связывается с ИЛ-6. Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ИЛ-6 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO:1158-1731 и 1732, приведенных в табл. 13. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ИЛ-6 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, вы-

бранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 1158-1731 и 1732. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ИЛ-6, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 1158-1731 и 1732.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ИЛ-6 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из:

YCPWDPIMMQCA (ILB394; SEQ ID NO:1733); LSNSCAW DPLLMNCIDTH (ILB227; SEQ ID NO:1734); FNEDCMWDPLLMDCA YSP (ILB915; SEQ ID NO:1735); INNLSPCYWDPLLMDCI (ILB235; SEQ ID NO:1736); VQY WEFETWEGQAGQGSFNEDCMWDPLLMDCA YSP (ILB914; SEQ ID NO:1737); HQADDPFGQWGQAGQGSFNEDCMWDPLLMDCA YSP (ILB910; SEQ ID NO:1738); PLWEQTKWQYQGQGSFNEDCMWDPLLMDCA YSP (ILB916; SEQ ID NO:1739); FNEDCMWDPLLMDCA YSPGQGSATGGSAAAGGSMCLTYEEICS (ILB790; SEQ ID NO:1740); ISMPCH SWEHCLSL (ILB754; SEQ ID NO:1741); GWGRVCDADYCCWVVC (ILB753; SEQ ID NO:1742); EYDWCWWEVK MFEEACWSLS (ILB909; SEQ ID NO:1743); VLSECFEAYRVVCQALT (ILB913; SEQ ID NO:1744); MGIRCQTWDHCLSIL (ILB911; SEQ ID NO:1745); и QRYPCCTTWEDCLVVL (ILB912; SEQ ID NO:1746).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ИЛ-6 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 1733-1745 и 1746. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ИЛ-6, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 1733-1745 и 1746.

Согласно одному варианту реализации указанный MRD связывается с рецептором ИЛ-6 (pИЛ-6). Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает pИЛ-6 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 1747-1908 и 1909, приведенных в табл. 14. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующий(ее) за связывание pИЛ-6 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 1747-1908 и 1909. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом pИЛ-6, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 1747-1908 и 1909.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает pИЛ-6 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из:

DLLEYCEWEMVVRECHGTI (ILC111; SEQ ID NO:1910); EFVLCCELAM VFRECHGAV (ILC82; SEQ ID NO:1911); ELIFCDLEMVFNECHGAI (ILC85; SEQ ID NO:1912); DYILCDLEMVFRECHGVL (ILC289; SEQ ID NO:1913); EFILCELEMVIRECHGTT (ILC92; SEQ ID NO:1914); PCEEAFAYLE (ILC110; SEQ ID NO:1915); PCEEAFAYLEEAYN (ILC134; SEQ ID NO:1916); ACEEAFASYLEENV (ILC100; SEQ ID NO:1917); DCNALFTGDLAW (ILC145);

SEQ ID NO:1918); DEEWTCFP TLCSLWSE (ILC51; SEQ ID NO:1919);
 EEEWTCFP SLCTIWSQ (ILC163; SEQ ID NO:1920); EEEWTCFP YLCSDWLQ
 (ILC168; SEQ ID NO:1921); EEEWTCFP YLCSEWVH (ILC235; SEQ ID NO:1922);
 QEEWTCFP YLC SYWAQ (ILC217; SEQ ID NO:1923); GQDDCW PYYCDELEY
 (ILC54 SEQ ID NO:1924); SCWTCIPEMVNCEAAH (ILC293; SEQ ID NO:1925);
 YWAKCDYHEGW HNC ELHP (ILC296; SEQ ID NO:1926); VFWDCW YYYGT
 WIECENTG (ILC295; SEQ ID NO:1927); GDTPCQEW PYWCLPPY (ILC290; SEQ ID
 NO:1928); HLISCEFHEKYVECVEVA (ILC291; SEQ ID NO:1929); STDYC
 EVLEIQWVCYRPP (ILC294; SEQ ID NO:1930); и QIVECWTEMDW HNCVLFF
 (ILC292 SEQ ID NO:1931).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание рИЛ-6 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO:1910-1930 и 1931. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом рИЛ-6, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 1910-1930 и 1931.

Согласно одному варианту реализации указанный MRD связывается с ИЛ-17а. Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ИЛ-17а и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 1932-1989 и 1990, приведенной в табл. 15. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ИЛ-17а с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 1932-1989 и 1990. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ИЛ-17а, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 1932-1989 и 1990.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ИЛ-17а и содержит последовательность аминокислот LSLWCWLINDVNCSEPV (ILA72; SEQ ID

NO:1991) или NPLWCWMFPADDPC VHPG (ILA20; SEQ ID NO:1992).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ИЛ-17а с полипептидом, имеющим последовательность аминокислот SEQ ID NO: 1991 или SEQ ID NO:1992. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ИЛ-17а, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 1991 или SEQ ID NO: 1992. Согласно одному варианту реализации указанный MRD связывается с TNFSF15 (TL1A). Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает TL1A и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 1993-2234 и 2235, приведенных в табл. 16. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание TL1A с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 1993-2234 и 2235. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом TL1A, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 1993-2234 и 2235.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает TL1A и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из:

QDRVCWDFHQKLQFCELSM (TLA525; SEQ ID NO:2236); YSSVCWDDTRE
 ALFYCETTV (TLA27; SEQ ID NO:2237); EYALCWVEAQEK LEWCKGLN (TLA522;
 SEQ ID NO:2238); DYEVCDVHVDR LVYCDAPM (TLA523; SEQ ID NO:2239);
 STEVCWDFIEQKLIWCSTFR (TLA35; SEQ ID NO:2240); QSDVCW
 NQSHQLLQFCWESN (TLA54; SEQ ID NO:2241); и DYAVCWDPDYG
 NLVWCNVLS (TLA524; SEQ ID NO:2242).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание TL1A с полипептидом, содержащим по-

следовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: 2236-2241 и 2242. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом TL1A, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 2236-2241 и 2242. Согласно одному варианту реализации указанный MRD связывается с TNFSF13B (BLyS). Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает BLyS и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из:

GDMGCWDWLTRTQVKCSLLV (BLY50; SEQ ID NO:2243); PRGTCWADPLT
GQCVQVM (BLY47; SEQ ID NO:2244); PAGMCFDNLTLQMVQCTSLK (BLY35
SEQ ID NO:2245); GPWACYETPTRQMCVPVF (BLY69 SEQ ID NO:2246); ERKA
CYFDPLVK QCLFVR (BLY60; SEQ ID NO:2247); TMPTCFMDPLTHQCWPSV
(BLY34; SEQ ID NO:2248); HPGRCYDQLTYEWVTCWHLW (BLY31; SEQ ID
NO:2249); RADLCYHENH NNECFFGM (BLY73; SEQ ID NO:2250); и TGSSC
WDILTKQMVPCLTAW (BLY27; SEQ ID NO:2251).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание BLyS с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 2243-2250 и 2251. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом BLyS, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 2243-2250 и 2251.

Согласно одному варианту реализации указанный MRD связывается с HER2/3. Согласно еще одному варианту реализации указанный MRD связывает рЭФР. Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает рЭФР и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 2252-3090 и 3091, приведенных в табл. 17. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание рЭФР с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 2252-3090 и 3091. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом рЭФР, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 2252-3090 и 3091.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает рЭФР и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из:

LTAPCYWTTWGKECLMLR (EGA79; SEQ ID NO:3092);
LNDNCYWTTWGREGYLLR (EGA191; SEQ ID NO:3093); FSDPCYWTTWGR
ECFLLP (EGA214; SEQ ID NO:3094); LPEGCYWTTWGKECLLLP (EGA234; SEQ ID
NO:3095); LPQGCWWTNWGKECYLPL (EGA626; SEQ ID NO:3096); LPEGCW
WSQWGKECLLLP (EGA623; SEQ ID NO:3097); LPQECYWAHWGKECYLPP
(EGA625; SEQ ID NO:3098); LPEGCWWAPWGKECLLHP (EGA673 SEQ ID
NO:3099); LPEDCWWSTWGREGCLLP (EGA990; SEQ ID NO:3100); ADSWCHTL
YWQLHHCASWE (EGA349; SEQ ID NO:3101); EESLCHTLYRQLHNCRSLE
(EGA406; SEQ ID NO:3102); ADSLCLTEYLELLQCERWE (EGA466; SEQ ID
NO:3103); ADSLCQTRHQQLDCERQE (EGA467; SEQ ID NO:3104); PESWCHTL
WNLQHCLSQE (EGA433; SEQ ID NO:3105); YAEHCWQFPTDWICTLMT (EGA518;
SEQ ID NO:3106); YAEHCLMFPDWDICTLLP (EGA771; SEQ ID NO:3107);
YASHCSQFPGDWICSLMT (EGA772; SEQ ID NO:3108); YAEHCRQFPSDWICTLLP
(EGA797; SEQ ID NO:3109); YADHCSQFPNDWICTLLS (EGA926; SEQ ID NO:3110);
YAEHCSLFPDWDICTLMS (EGA958; SEQ ID NO:3111); и
YAEHCSQFPSDWICSLLS (EGA917; SEQ ID NO:3112).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание рЭФР с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 3092-3111 и 3112. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает

MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом рЭФР, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 3092-3111 и 3112.

Согласно еще одному варианту реализации указанный MRD связывает ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ErbB2 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 3113-3494 и 3495, приведенных в табл. 18. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ErbB2 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 3113-3494 и 3495. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ErbB2, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 3113-3494 и 3495.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ErbB2 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из:

SAISCYVYQQRHRCWDH (EGB417; SEQ ID NO:3496);

WSGYCEMKDHWANCGHSE (EGB390; SEQ ID NO:3497); и WSGYCETPSGWK

ACRGNI (EGB858; SEQ ID NO:3498).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ErbB2 с полипептидом, имеющим последовательность аминокислот SEQ ID NO: 3496, SEQ ID NO: 3497 или SEQ ID NO: 3498. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ErbB2, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 3496, SEQ ID NO: 3497 или SEQ ID NO: 3498.

Согласно еще одному варианту реализации указанный MRD связывает ErbB3. Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ErbB3 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 3499-4086 и 4087, приведенных в табл. 19. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ErbB3 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 3499-4086 и 4087. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ErbB3, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 3499-4086 и 4087.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ErbB3 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из:

SSEYCPFLNPYWDQCMSRT (EGC1077; SEQ ID NO:4088);

SEPYCPFLNPTWKSQCIART (EGC180; SEQ ID NO:4089); SQVSCP

FQNPWWSHCMELM (EGC42; SEQ ID NO:4090); GSKPYCPFTNPIWYDECIKRS

(EGC593; SEQ ID NO:4091); ATEPYCPFLNPIWKAELARS (EGC503; SEQ ID

NO:4092); KFLMCQVYPSEKWHVCVETL (EGC41 SEQ ID NO:4093); и SKPYC

PFTNPIWYDECIKRSGGSGGGSQAAAGGSYMHPEHMQVLEIMN (EGC1086;

SEQ ID NO:4094).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ErbB3 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 4088-4093 и 4094. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ErbB3, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 4088-4093 и 4094.

В настоящем изобретении могут также применяться специфические в отношении рецептора инсулиноподобного фактора роста-1 (ErbB4) домены MRD. Согласно одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает ErbB4 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 4095-4123 и 4124, приведенных в табл. 20. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание ErbB4 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоя-

щей из: последовательностей SEQ ID NO: 4095-4123 и 4124. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом ErbB4, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 4095-4123 и 4124. Согласно еще одному варианту реализации указанный MRD связывает рецептор суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNFRSF) 10B (DR5). Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает DR5 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 4125-4319 и 4320, приведенных в табл. 21. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание DR5 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 4125-4319 и 4320. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом DR5, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 4125-4319 и 4320.

Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает DR5 и содержит последовательность аминокислот
WDCLGKLGQR QCVKL (DR5218; SEQ ID

NO:4321) или FPRPCEEDVIMTCRWRV (DR53; SEQ ID NO:4322).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание DR5 с полипептидом, имеющим последовательность аминокислот SEQ ID NO: 4321 или SEQ ID NO: 4322. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом DR5, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 4321 или SEQ ID NO: 4322. Как продемонстрировано В настоящем документе увеличение валентности нацеленных на DR5 доменов MRD в MRD-содержащем антителе приводит к соответствующему повышению опосредованной DR-5 клеточной цитотоксичности (см. пример 46).

Соответственно, согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD-содержащее антитело, которое содержит по меньшей мере 4, по меньшей мере 6, по меньшей мере 8 или по меньшей мере 10 доменов MRD, которые связывают DR5. Кроме того, как продемонстрировано в настоящем документе, увеличение количества эпитопов при таргетинге мишени, отличной от DR5 (например, ErbB2 и рЭФР) в связывающем DR5 MRD-содержащем антителе коррелирует с повышенной опосредованной DR5 клеточной цитотоксичностью. Соответственно, согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD-содержащее антитело, которое связывает DR5 и по меньшей мере два отдельных эпитопа мишени, отличной от DR5. Более того, как продемонстрировано в настоящем документе, антитело-скаффолд связывающего DR5 MRD-содержащего антитела влияет на уровень опосредованной DR5 клеточной цитотоксичности MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт связывающего DR5 MRD-содержащего антитела связывает молекулу на поверхности целевой клетки, экспрессирующей DR5. Согласно дополнительному варианту реализации указанный антитело-комбинирующий сайт MRD-содержащего антитела связывает молекулу на поверхности клетки, а домены MRD MRD-содержащего антитела связывают DR5 через один или большее количество эпитопов с валентностью, составляющей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более. Согласно альтернативным вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт связывающего DR5 MRD-содержащего антитела не связывается с молекулой на поверхности целевой клетки, которая экспрессирует на поверхности DR5. Согласно дополнительному варианту реализации указанный антитело-комбинирующий сайт MRD-содержащего антитела не связывает молекулу на поверхности целевой клетки, а домены MRD MRD-содержащего антитела связывают DR5 через один или большее количество эпитопов с валентностью, составляющей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более.

Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает DR4 (TNFRSF10A/TRAIL R1). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере 4, по меньшей мере 6, по меньшей мере 8 или по меньшей мере 10 доменов MRD, которые связывают DR4 (TNFRSF10A/(TRAIL R1)). Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD-содержащее антитело, которое связывает DR4 и по меньшей мере два отдельных эпитопа мишени, отличной от DR4. Согласно некоторым вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт связывающего DR4 MRD-содержащего антитела связывает молекулу на поверхности целевой клетки, экспрессирующей DR4. Согласно дополнительному варианту реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывает молекулу на поверхности клетки, а домены MRD MRD-содержащего антитела связывают DR4 через один или большее количество эпитопов с валентностью, составляющей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более. Согласно альтернативным вариантам реализации указан-

ный антитело-комбинирующий сайт связывающего DR4 MRD-содержащего антитела не связывается с молекулой на поверхности целевой клетки, которая экспрессирует на поверхности DR4. Согласно дополнительному варианту реализации антитело-комбинирующий сайт MRD-содержащего антитела не связывает молекулу на поверхности целевой клетки, а домены MRD MRD-содержащего антитела связывают DR4 через один или большее количество эпитопов с валентностью, составляющей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более.

Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD-содержащее антитело, которое связывает сигнальную молекулу клеточной поверхности. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере 4, по меньшей мере 6, по меньшей мере 8 или по меньшей мере 10 доменов MRD, которые связывают сигнальную молекулу клеточной поверхности. Согласно конкретным вариантам реализации указанная сигнальная молекула клеточной поверхности выбрана из: с-Met, рЭФР, ErbB2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рецептора ФРФ-3 (рФРФ-3), α-рецептора тромбоцитарного фактора роста (рТцФР-A), β-рецептора тромбоцитарного фактора роста (рТцФР-B), нетрина, CD28, рецептора 1A суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 1B (TNFRSF1A, TNFR1, p55, p60), рецептора суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 1B (TNFRSF1B, TNFR2), TNFRSF 6 (Fas, CD95), TNFRSF 21 или TNFRSF 25, TNFRSF 7 (CD27), TNFRSF 8 (CD30), TNFRSF 11A (RANK), TNFRSF21 (DR6), TNFRSF25 (DR3) и LRP6. Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD-содержащее антитело, которое связывает сигнальную молекулу клеточной поверхности и по меньшей мере два отдельных эпитопа мишени, отличной от сигнальной молекулы клеточной поверхности. Согласно некоторым вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт MRD-содержащего антитела связывает молекулу на поверхности целевой клетки, экспрессирующей сигнальную молекулу клеточной поверхности. Согласно дополнительному варианту реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывает молекулу на поверхности клетки, а домены MRD MRD-содержащего антитела связывают сигнальную молекулу клеточной поверхности через один или большее количество эпитопов с валентностью, составляющей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более. Согласно альтернативным вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт связывающего сигнальную молекулу клеточной поверхности MRD-содержащего антитела не связывается с молекулой на поверхности целевой клетки, которая экспрессирует сигнальную молекулу клеточной поверхности. Согласно дополнительному варианту реализации указанный антитело-комбинирующий сайт MRD-содержащего антитела не связывает молекулу на поверхности целевой клетки, а домены MRD MRD-содержащего антитела связывают сигнальную молекулу клеточной поверхности через один или большее количество эпитопов с валентностью, составляющей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более. Согласно еще одному варианту реализации MRD связывает CD19. Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывает CD19 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из:

STLTQCQVWLEDWYECIEVD (CDA1; SEQ ID NO:4323); PNWVCWET
PWTYECLEIE (CDA16; SEQ ID NO:4324); VLLH CFGEPCQWMECVPYV (CDA26;
SEQ ID NO:4325); FSPFCQYFQEFGECHYLS (CDA33; SEQ ID NO:4326); LLLRCM
YEPYYWELQCVEVE (CDA48; SEQ ID NO:4327); и YIYTCSFIWDYQEIYCSPLE
(CDA53; SEQ ID NO:4328).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание CD19 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 4323-4327 и 4328. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, которое(ый) связывается с тем же эпитопом CD19, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 4323-4327 и 4328.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD связывается с белком человека. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD, связывается и с белком человека и его ортологом у мыши, крысы, кролика или хомяка.

III. Антитела.

Антитело в мультивалентных и мультиспецифических композициях (например, MRD-содержащих антителах), описанных в настоящем документе, может представлять собой любой подходящий антиген-связывающий иммуноглобулин. Согласно определенным вариантам реализации молекулы MRD-содержащего антитела, описанные в настоящем документе, сохраняют структурные и функциональные характеристики традиционных моноклональных антител. Соответственно, указанные антитела сохраняют связывающие свойства в отношении эпитопов, но также, благоприятным образом, обладают одной или большим числом дополнительных видов связывающей специфичности в отношении мишени. Анти-

тела, которые могут применяться в мультивалентных и мультиспецифических композициях (например, MRD-содержащих антителах) включают, не ограничиваясь перечисленными, моноклональные антитела, мультиспецифические антитела, антитела человека, гуманизированные, приматизированные и гибридные антитела. Молекулы иммуноглобулина или антитела согласно настоящему изобретению могут относиться к любому типу (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA, и IgY), классу (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подклассу молекул иммуноглобулина. Согласно конкретным вариантам реализации указанные антитела представляют собой IgG1. Согласно другим конкретным вариантам реализации указанные антитела представляют собой IgG3.

Антитела, которые могут применяться в качестве части указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) могут быть получены естественным путем или в результате применения рекомбинантной инженерии (например, фагового дисплея, мышей Xеноmouse и синтетических методов). Указанные антитела могут содержать модификации, например, для увеличения периода полувыведения или для усиления или ослабления активности антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) и/или комплементзависимой цитотоксичности (КЗЦ). Антитела могут принадлежать любым животным или происходить от любых животных, включая птиц и млекопитающих, или быть получены синтетическим путем. Согласно некоторым вариантам реализации указанные антитела представляют собой антитела человека, мыши, осла, кролика, козы, морской свинки, верблюда, ламы, лошади или курицы. Согласно конкретным вариантам реализации указанный антител представляет собой антитела человека.

Согласно определенным вариантам реализации фрагменты тяжелой цепи одной полипептидной цепи мультимера идентичны фрагментам тяжелой цепи второй полипептидной цепи указанного мультимера. Согласно альтернативным вариантам реализации мономеры, содержащие фрагменты тяжелой цепи согласно настоящему изобретению не идентичны. Например, все мономеры могут содержать разные сайты связывания мишени, образуя, например, биспецифические антитело. Биспецифические бивалентные антитела и способы их получения описаны, например, в патентах США № 5731168, 5807706, 5821333 и опубликованных заявках на патент США № 2003/020734 и 2002/0155537, каждый(ая) из которых полностью включен(а) в настоящий документ посредством ссылки. Биспецифические тетравалентные антитела и способы их получения описаны, например, в международных заявках на патент № WO02/096948 и WO00/44788, содержание которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. См., в целом, международные заявки на патент № WO93/17715, WO92/08802, WO91/00360 и WO92/05793; Tutt et al., J. Immunol. 147:60-69 (1991); патенты США № 4474893; 4714681; 4925648; 5573920; и 5601819; и Kostelny et al., J. Immunol. 148:1547-1553 (1992).

Фрагменты тяжелой цепи антитела-компонента гибридов MRD-антитело для применения в способах, раскрытых в настоящем документе, могут происходить из разных молекул иммуноглобулина. Например, фрагмент тяжелой цепи полипептида может содержать домен CH1, который происходит из молекулы IgG1, и шарнирную область, которая происходит из молекулы IgG3. Согласно другому примеру фрагмент тяжелой цепи может содержать шарнирную область, происходящую частично из молекулы IgG1 и частично из молекулы IgG3. Согласно другому примеру фрагмент тяжелой цепи может содержать гибридную шарнирную область, происходящую частично из молекулы IgG1 и частично из молекулы IgG4.

Согласно некоторым вариантам реализации указанные антигенсвязывающие домены антитела-компонента указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) связываются со своей мишенью с константой диссоциации, или K_d , составляющей менее чем 5×10^{-3} М, 10^{-3} М, 5×10^{-4} М, 10^{-4} М, 5×10^{-5} М, 10^{-5} М, 5×10^{-6} М, 10^{-6} М, 5×10^{-7} М, 10^{-7} М, 5×10^{-8} М, 10^{-8} М, 5×10^{-9} М, 10^{-9} М, 5×10^{-10} М, 10^{-10} М, 5×10^{-11} М, 10^{-11} М, 5×10^{-12} М, 10^{-12} М, 5×10^{-13} М, 10^{-13} М, 5×10^{-14} М, 10^{-14} М, 5×10^{-15} М или 10^{-15} М. Согласно одному варианту реализации антитело-компонент указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-5} М. Согласно еще одному варианту реализации связывание антигена антителом-компонентом указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) имеет константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-8} М. Согласно еще одному варианту реализации связывание антигена антителом-компонентом указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) имеет константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-9} М. Согласно еще одному варианту реализации антитело-компонент указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-10} М. Согласно еще одному варианту реализации антитело-компонент указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-11} М. Согласно еще одному варианту реализации антитело-компонент указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) имеют константу диссоциации, или K_d , составляющую менее чем 5×10^{-12} М. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент

MRD-содержащего антитела связывает мишень со скоростью диссоциации (k_{off}) составляющей менее $5 \times 10^{-2} \text{ с}^{-1}$, 10^{-2} с^{-1} , $5 \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ или 10^{-3} с^{-1} . Предпочтительнее, чтобы антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает мишень со скоростью диссоциации (k_{off}) составляющей менее $5 \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$, 10^{-4} с^{-1} , $5 \times 10^{-5} \text{ с}^{-1}$ или 10^{-5} с^{-1} , $5 \times 10^{-6} \text{ с}^{-1}$, 10^{-6} с^{-1} , $5 \times 10^{-7} \text{ с}^{-1}$ или 10^{-7} с^{-1} .

Согласно другим конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает мишень со скоростью связывания (k_{on}), составляющей более $10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, $10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ или $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$. Предпочтительнее, чтобы антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает мишень со скоростью связывания (k_{on}), составляющей более $10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, $10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, или $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, или $10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$.

Стратегии аффинного созревания и шаффлинга цепей (например, шаффлинга генов, шаффлинга мотивов, шаффлинга экзонов и/или шаффлинга кодонов (в совокупности называемые "шаффлингом ДНК") известны в данной области техники и могут применяться для обеспечения высокой аффинности и/или для изменения активности (например, АЗКЦ и КЗЦ) мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител)). См., например, источники: патенты США № 5605793, 5811238, 5830721, 5834252 и 5837458; и Patten et al., Curr. Opin. Biotechnol. 8:724-733 (1997), Harayama, Trends Biotechnol. 16(2):76-82 (1998), Hansson et al., J. Mol. Biol. 287:265-276 (1999) и Lorenzo and Blasco, Biotechniques 24(2):308-313 (1998); каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Благоприятным образом, стратегии аффинного созревания и стратегии шаффлинга цепей могут рутинно использоваться для получения мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), которые могут также включать варианты и производные, улучшающие функцию и/или нужные фармакодинамические свойства антитела.

Соответственно, определенные варианты реализации настоящего изобретения включают гибриды антитело-MRD, в котором по меньшей мере часть одного или большего количества доменов константной области были изменены таким образом, чтобы обеспечивать требуемые биохимические характеристики, такие как пониженные или повышенные эффекторные функции, способность к нековалентной димеризации, повышенная способность к локализации в области опухоли, уменьшенный период полувыведения в сыворотке или увеличенный период полувыведения в сыворотке по сравнению с неизмененным антителом, обладающим приблизительно такой же иммунореактивностью. Изменения доменов константной области могут представлять собой замены, вставки или удаления аминокислот.

"Антителозависимая клеточная цитотоксичность", или "АЗКЦ" относится к форме цитотоксичности, при которой секретируемый Ig, связанный с Fc-рецепторами (FcR), экспрессируемых на определенных цитотоксических клетках (например, естественные клетки киллеры (NK), нейтрофилы и макрофаги), позволяет указанным цитотоксическим эффекторным клеткам локализоваться возле несущей антиген целевой клетки и затем убивать целевую клетку цитотоксинами. Специфические высокоаффинные IgG-антитела, нацеленные на поверхность целевых клеток, "вооружают" цитотоксические клетки и необходимы для такого киллинга. Лизис целевой клетки является внеклеточным, требует контакта или плотного сближения цитотоксических клеток и целевых клеток, и не включает комплемент.

Предполагается, что в настоящем документе термин "усиливает АЗКЦ" (например, в отношении клеток) включает любое измеряемое увеличение лизиса клеток при контакте с вариантом MRD-содержащего антитела, по сравнению с киллингом клеток при контакте с MRD-содержащим антителом, которое не было модифицировано изменяющим АЗКЦ способом, в присутствии эффекторных клеток (например, при отношении целевых клеток к эффекторным клеткам, составляющем 1:50), например, увеличение лизиса клеток по меньшей мере приблизительно на 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300 или 325%. Согласно определенным вариантам реализации антитело-компонент гибрида антитело-MRD модифицировано таким образом, чтобы увеличивать антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) (см., например, источники: Bruhns et al., Blood 113:3716-3725 (2009); Shields et al., J. Biol. Chem. 276:6591-6604 (2001); Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4005-4010 (2006); Stavenhagen et al., Cancer Res., 67:8882-8890 (2007); Horton et al., Cancer Res. 68:8049-8057 (2008); Zalevsky et al., Blood 113:3735-3743 (2009); Bruckheimer et al., Neoplasia 11:509-517 (2009); Allan et al., WO2006/020114; Strohl, Curr. Op. Biotechnol. 20:685-691 (2009); и Watkins et al., WO2004/074455, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Примеры сконструированных модификаций последовательности Fc, содержащейся в антитело-компоненте гибридов антитело-MRD, которые усиливают АЗКЦ, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих:

IgG1-S298A, E333A, K334A; IgG1-S239D, I332E;

IgG1-S239D, A330L, I332E; IgG1-P247I, A339D или Q; IgG1-D280H, K290S – с S298D

или V или без S298D или V; IgG1-F243L, R292P, Y300L; IgG1-F243L, R292P, Y300L,

P396L; и IgG1-F243L, R292P, Y300L, V305I, P396L;

нумерация остатков Fc-области соответствует EU-индексу согласно системе Kabat.

Согласно одному варианту реализации вариант белка Fc обладает повышенной АЗКЦ-активностью по сравнению с сопоставляемой молекулой. Согласно конкретному варианту реализации вариант белка

Fc обладает АЗКЦ-активностью, по меньшей мере в 2 раза, или по меньшей мере в 3 раза, или по меньшей мере в 5 раз или по меньшей мере в 10 раз, или по меньшей мере в 50 раз, или по меньшей мере в 100 раз превышающей АЗКЦ-активность сопоставляемой молекулы. Согласно еще одному конкретному варианту реализации связывание варианта белка Fc с Fc-рецептором Fc-гамма-IIA усилено и он обладает повышенной АЗКЦ-активностью по сравнению с сопоставляемой молекулой. Согласно другим вариантам реализации указанный вариант белка Fc и обладает повышенной АЗКЦ-активностью, и имеет увеличенный период полувыведения в сыворотке по сравнению с сопоставляемой молекулой.

Способность любого конкретного варианта белка Fc опосредовать лизис целевой клетки путем АЗКЦ может быть проанализирована с применением известного в данной области техника способа. Например, для оценки АЗКЦ-активности мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) может быть добавлена к целевым клеткам в комбинации с иммунными эффекторными клетками, которые могут активироваться комплексами антиген-антитело, что приводит к цитолизу целевой клетки. Цитолиз детектируют, как правило, по высвобождению метки (например, радиоактивных субстратов, флуоресцентных красителей или природных внутриклеточных белков) из лизированных клеток. Подходящие эффекторные клетки для таких анализов включают мононуклеарные клетки периферической крови (МКГЖ) и естественные клетки киллеры (NK). Конкретные примеры анализов АЗКЦ *in vitro* описаны у Wisecarver et al., J Immunol Methods 79:277-282 (1985); Bruggemann et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987); Wilkinson et al., J. Immunol. Methods 258:183-191 (2001); Patel et al., J. Immunol. Methods 184:29-38 (1995). Как альтернативный вариант или дополнительно, АЗКЦ-активность указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащее антитело) может оцениваться *in vivo*, например, в модели на животных, например, раскрытых у Clynes et al., PNAS USA 95:652-656 (1998) и в патенте США № 7662925. Согласно определенным вариантам реализации антитело-компонент гибрида антитело-MRD был модифицирован таким образом, чтобы уменьшать АЗКЦ (см., например, источники: Idusogie et al., J. Immunol. 166:2571-2575 (2001); Sazinsky et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:20167-20172 (2008); Davis et al., J. Rheumatol. 34:2204-2210 (2007); Bolt et al., Eur. J. Immunol. 23:403-411 (1993); Alegre et al., Transplantation 57:1537-1543 (1994); Xu et al., Cell Immunol. 200:16-26 (2000); Cole et al., Transplantation 68:563-571 (1999); Hutchins et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:11980-11984 (1995); Reddy et al., J. Immunol. 164:1925-1933 (2000); Int. Appl. публ. № WO1997/11971 и WO2007/106585; опубликованная заявка на патент США 2007/0148167A1; McEarchern et al., Blood 109:1185-1192 (2007); Strohl, Curr. Op. Biotechnol. 20:685-691 (2009); и Kumagai et al., J. Clin. Pharmacol. 47:1489-1497 (2007), каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Примеры сконструированных модификаций последовательностей Fc, содержащихся в антитело-компоненте гибридов антитело-MRD, уменьшающих АЗКЦ, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих:

IgG1-K326W, E333S; IgG2-E333S; IgG1-N297A; IgG1-L234A, L235A; IgG2-V234A, G237A; IgG4-L235A, G237A, E318A; IgG4-S228P, L236E; последовательность 118-260 IgG2 по EU; последовательность IgG4 261-447 по EU; IgG2-H268Q, V309L, A330S, A331S; IgG1-C220S, C226S, C229S, P238S; IgG1-C226S, C229S, E233P, L234V, L235A; и IgG1-L234F, L235E, P331S.

Согласно определенным вариантам реализации антитело-компонент гибрида антитело-MRD модифицирован для увеличения антитело-зависимого клеточного фагоцитоза (АЗКФ); (см., например, источники: Shields et al., J. Biol. Chem. 276:6591-6604 (2001); Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4005-4010 (2006); Stavenhagen et al., Cancer Res., 67:8882-8890 (2007); Richards et al., Mol. Cancer Ther. 7:2517-2527 (2008); Horton et al., Cancer Res. 68:8049-8057 (2008); Zalevsky et al., Blood 113:3735-3743 (2009); Bruckheimer et al., Neoplasia 11:509-517 (2009); Allan et al., WO2006/020114; Strohl, Curr. Op. Biotechnol. 20:685-691 (2009); и Watkins et al., WO2004/074455, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Примеры сконструированных модификаций последовательностей Fc, содержащихся в антитело-компоненте гибридов антитело-MRD, которые увеличивают АЗКФ, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих:

IgG1-S298A, E333A, K334A; IgG1-S239D, I332E; IgG1-S239D, A330L, I332E; IgG1-P247I, A339D или Q; IgG1-D280H, K290S и S298D или V, или без S298D или V; IgG1-F243L, R292P, Y300L; IgG1-F243L, R292P, Y300L, P396L; IgG1-F243L, R292P, Y300L, V305I, P396L; IgG1-G236A, S239D, I332E.

Согласно определенным вариантам реализации антитело-компонент гибрида антитело-MRD было модифицировано для уменьшения АЗКФ (см., например, источники: Sazinsky et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:20167-20172 (2008); Davis et al., J. Rheumatol. 34:2204-2210 (2007); Bolt et al., Eur. J. Immunol. 23:403-411 (1993); Alegre et al., Transplantation 57:1537-1543 (1994); Xu et al., Cell Immunol. 200:16-20 (2000); Cole et al., Transplantation 68:563-571 (1999); Hutchins et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:11980-11984 (1995); Reddy et al., J. Immunol. 164:1925-1933 (2000); опубликованные международные заявки №WO 1997/11971 и WO2007/106585; опубликованная заявка на патент США 2007/0148167; McEarchern

et al., Blood 109:1185-1192 (2007); Strohl, Curr. Op. Biotechnol. 20:685-691 (2009); и Kumagai et al., J. Clin. Pharmacol. 47:1489-1497 (2007), каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Примеры сконструированных модификаций последовательностей Fc, содержащихся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, которые уменьшают АЗКЦ, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих:

IgG1-N297A; IgG1-L234A, L235A;
IgG2-V234A, G237A; IgG4-L235A, G237A, E318A; IgG4-S228P, L236E;
последовательность IgG2 118–260 по EU; последовательность IgG4 261–447 по EU;
IgG2-H268Q, V309L, A330S, A331S; IgG1-C220S, C226S, C229S, P238S; IgG1-C226S,
C229S, E233P, L234V, L235A; и IgG1-L234F, L235E, P331S.

"Комплементзависимая цитотоксичность" и "КЗЦ" относятся к лизису целевой клетки в присутствии комплемента. Путь активации комплемента запускается связыванием первого компонента системы комплемента (C1q) с молекулой, например, антителом, образующим комплекс с когнатным антигеном. Для оценки активации комплемента может быть выполнен анализ КЗЦ, например, согласно описанию у Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996). Согласно одному варианту реализации вариант белка Fc обладает повышенной КЗЦ-активностью по сравнению с сопоставляемой молекулой. Согласно конкретному варианту реализации вариант белка Fc обладает КЗЦ-активностью, по меньшей мере в 2 раза, или по меньшей мере в 3 раза, или по меньшей мере в 5 раз, или по меньшей мере в 10 раз, или по меньшей мере в 50 раз, или по меньшей мере в 100 раз превышающей активность сопоставляемой молекулы. Согласно другим вариантам реализации указанный вариант белка Fc и обладает усиленной КЗЦ-активностью, и имеет увеличенный период полувыведения в сыворотке по сравнению с сопоставляемой молекулой.

Согласно определенным вариантам реализации антитело-компонент гибридов антитело-MRD было модифицировано для повышения комплементзависимой цитотоксичности (КЗЦ) (см., например, источники: Idusogie et al., J. Immunol. 166:2571-2575 (2001); Strohl, Curr. Op. Biotechnol. 20:685-691 (2009); и Natsume et al., Cancer Res. 68:3863-3872 (2008), каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Примеры сконструированных модификаций последовательностей Fc, содержащихся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, которые увеличивают КЗЦ, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих: IgG1-K326A, E333A; и IgG1-K326W, E333S, IgG2-E333S.

Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложены составы, Fc-область в которых содержит не встречающийся в природе остаток аминокислоты в одном или большем количестве положений, выбранных из группы, состоящей из 234, 235, 236, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 252, 254, 256, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 269, 296, 297, 298, 299, 313, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 332, 333, и 334 согласно EU-индексу в системе Kabat. Fc-область может, необязательно, содержать не встречающийся в природе остаток аминокислоты в дополнительных и/или альтернативных положениях, известных специалисту в данной области техники (см., например, патенты США № 5624821, 6277375 и 6737056; и международные заявки на патент № WO01/58957, WO02/06919, WO04/016750, WO04/029207, WO04/035752 и WO05/040217).

Согласно конкретным вариантам реализации MRD-содержащие антитела согласно настоящему изобретению содержат вариант Fc, содержащий по меньшей мере один не встречающийся в природе остаток аминокислоты, выбранный из группы, состоящей из

234D, 234E, 234N, 234Q, 234T, 234H, 234Y, 234I, 234V, 234F, 235A,
235D, 235R, 235W, 235P, 235S, 235N, 235Q, 235T, 235H, 235Y, 235I, 235V, 235F,
236E, 239D, 239E, 239N, 239Q, 239F, 239T, 239H, 239Y, 240I, 240A, 240T, 240M,
241W, 241 L, 241Y, 241E, 241 R, 243W, 243L 243Y, 243R, 243Q, 244H, 245A, 247V,
247G, 252Y, 254T, 256E, 262I, 262A, 262T, 262E, 263I, 263A, 263T, 263M, 264L, 264I,
264W, 264T, 264R, 264F, 264M, 264Y, 264E, 265G, 265N, 265Q, 265Y, 265F, 265V,
265I, 265L, 265H, 265T, 266I, 266A, 266T, 266M, 267Q, 267L, 269H, 269Y, 269F, 269R,
296E, 296Q, 296D, 296N, 296S, 296T, 296L, 296I, 296H, 269G, 297S, 297D, 297E, 298H,
298I, 298T, 298F, 299I, 299L, 299A, 299S, 299V, 200H, 299F, 299E, 313F, 325Q, 325L,
325I, 325D, 325E, 325A, 325T, 325V, 325H, 327G, 327W, 327N, 327L, 328S, 328M,
328D, 328E, 328N, 328Q, 328F, 328I, 328V, 328T, 328H, 328A, 329F, 329H, 329Q, 330K,
330G, 330T, 330C, 330L, 330Y, 330V, 330I, 330F, 330R, 330H, 332D, 332S, 332W, 332F,
332E, 332N, 332Q, 332T, 332H, 332Y и 332A

согласно EU-индексу в системе Kabat.

Необязательно Fc-область может содержать дополнительные и/или альтернативные не встречающиеся в природе остатки аминокислот, известные специалисту в данной области техники (см., например,

патенты США № 5624821, 6277375 и 6737056; и международные заявки на патент № WO01/58957, WO02/06919, WO04/016750, WO04/029207, WO04/035752 и WO05/040217).

Согласно определенным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция представляет собой гибриды антитело-MRD, где компонент-антитело был модифицирован для усиления ингибирующего связывания с рецептором Fc-гамма-1В (см., например, Chu et al., *Mol. Immunol.* 45:3926-3933 (2008)). Примером сконструированных модификаций последовательности Fc, содержащихся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, которые увеличивают связывание с ингибирующим рецептором Fc-гамма-1b, является IgG1-S267E, L328F.

Согласно определенным вариантам реализации антитело-компонент гибридов антитело-MRD были модифицированы таким образом, чтобы уменьшать КЗЦ (см., например, международные заявки на патент № WO1997/11971 и WO2007/106585; опубликованную заявку на патент США №2007/0148167A1; McEarchern et al., *Blood* 109:1185-1192 (2007); Hayden-Ledbetter et al., *Clin. Cancer* 15:2739-2746 (2009); Lazar et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:4005-4010 (2006); Bruckheimer et al., *Neoplasia* 11:509-517 (2009); Strohl, *Curr. Op. Biotechnol.* 20:685-691 (2009); и Sazinsky et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105:20167-20172 (2008); каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Примеры сконструированных модификаций последовательностей Fc, содержащихся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, которые уменьшают КЗЦ, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих: IgG1-S239D, A330L, I332E; последовательность 118-260 IgG2 по EU; последовательность 261-447IgG4 по EU; IgG2-H268Q, V309L, A330S, A331S; IgG1-C226S, C229S, E233P, L234V, L235A; IgG1-L234F, L235E, P331S; и IgG1-C226S, P230S.

Период полувыведения IgG опосредован его pH-зависимым связыванием с неонатальным рецептором FcRn. Согласно определенным вариантам реализации антитело-компонент гибрида антитело-MRD модифицировано таким образом, чтобы усиливать связывание с FcRn (см., например, источники: Petkova et al., *Int. Immunol.* 18:1759-1769 (2006); Dall'Acqua et al., *J. Immunol.* 169:5171-5180 (2002); Oganessian et al., *Mol. Immunol.* 46:1750-1755 (2009); Dall'Acqua et al., *J. Biol. Chem.* 281:23514-23524 (2006), Hinton et al., *J. Immunol.* 176:346-356 (2006); Datta-Mannan et al., *Drug Metab. Dispos.* 35:86-94 (2007); Datta-Mannan et al., *J. Biol. Chem.* 282:1709-1717 (2007); межд. опубл. заявка №WO2006/130834; Strohl, *Curr. Op. Biotechnol.* 20:685-691 (2009); и Yeung et al., *J. Immunol.* 182:7663-7671 (2009); каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело в гибриде антитело-MRD модифицировано таким образом, чтобы селективно связывать FcRn при pH 6,0, не при pH 7,4. Примеры сконструированных модификаций последовательностей Fc, содержащихся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, которые увеличивают период полувыведения, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих:

IgG1-M252Y, S254T, T256E; IgG1-T250Q, M428L;

IgG1-H433K, N434Y; IgG1-N434A; и IgG1-T307A, E380A, N434A.

Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент гибрида антитело-MRD модифицировано таким образом, чтобы уменьшать связывание с FcRn (см., например, источники, Petkova et al., *Int. Immunol.* 18:1759-1769 (2006); Datta-Mannan et al., *Drug Metab. Dispos.* 35:86-94 (2007); Datta-Mannan et al., *J. Biol. Chem.* 282:1709-1717 (2007); Strohl, *Curr. Op. Biotechnol.* 20:685-691 (2009); и Vaccaro et al., *Nat. Biotechnol.* 23:1283-1288 (2005), каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Примеры сконструированных модификаций последовательностей Fc, содержащихся в антителе-компоненте гибридов антитело-MRD, уменьшающих период полувыведения, включают одну или большее количество модификаций, соответствующих:

IgG1-M252Y, S254T, T256E;

H433K, N434F, 436H; IgG1-I253A; и IgG1-P257L, N434H или D376V, N434H.

Согласно некоторым вариантам реализации указанные гибриды антитело-MRD были получены с использованием гликоинженерии, или Fc-фрагмент MRD-содержащего антитела был мутирован для усиления эффекторной функции с применением техник, известных в данной области техники. Например, инактивация (посредством точечных мутаций или другим способом) домена константной области может уменьшать связывание Fc-рецептором циркулирующего модифицированного антитела, таким образом улучшая локализацию в опухоли. В других случаях модификации константной области, согласующиеся с настоящим изобретением, могут ослаблять связывание комплемента и соответственно уменьшать период полувыведения в сыворотке и неспецифическое связывание конъюгированного цитотоксина. Могут использоваться и другие модификации константной области для модификации дисульфидных связей или олигосахаридных фрагментов, обеспечивающие лучшую локализацию за счет повышенной антигенспецифичности или гибкости антитела. Полученный физиологический профиль, биодоступность и другие биохимические эффекты указанных модификаций, такие как локализация в опухоли, биораспределение и период полувыведения в сыворотке, может легко быть измерено и количественно определено с применением хорошо известных иммунологических техник без излишних экспериментов.

Способы получения антител, содержащих не встречающиеся в природе Fc-области, известны в данной области техники. Например, замены и/или удаления аминокислот могут быть получены путем мута-

генеза, в том числе, но не ограничиваясь перечисленными, сайт-специфического мутагенеза (Kunkel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:488-492 (1985)), ПЦР-мутагенеза (Higuchi, "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications", Academic Press, San Diego, pp. 177-183 (1990)) и кассетного мутагенеза (Wells et al., Gene 34:315-323 (1985)). Сайт-специфический мутагенез может быть выполнен методом ПНР с перекрывающимися праймерами (Higuchi, "PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification", Stockton Press, New York, pp. 61-70 (1989)). Как вариант, может применяться техника ПНР с перекрывающимися праймерами (Higuchi, там же) для введения любой(ых) требуемой(ых) мутации(ий) в целевую последовательность (стартовая ДНК). В данной области техники известны другие способы, подходящие для получения антител, содержащих не встречающийся в природе Fc-области (см., например, патенты США № 5624821, 5885573, 5677425, 6165745, 6277375, 5869046, 6121022, 5624821, 5648260, 6528624, 6194551, 6737056, 6821505 и 6277375; опубликованную заявку на патент США №2004/0002587 и опубликованные международные заявки №WO94/29351, WO99/58572, WO00/42072, WO02/060919, WO04/029207, WO04/099249 и WO04/063351).

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), применяемые в соответствии со способами, предложенными в настоящем изобретении, также включают производные, модифицированные, например, путем ковалентного присоединения к антителу молекулы любого типа таким образом, что указанное ковалентное присоединение не предотвращает специфическое связывание антитела с его когнатным эпитопом. Например, но без ограничения, производные антитела включают антитела, которые были модифицированы, например, путем гликозилирования, ацетилирования, пегилирования, фосфорилирования, амидирования или дериватизации известными защитными/блокирующими группами. Любые из многочисленных химических модификаций могут быть выполнены посредством известных техник, включая, но не ограничиваясь перечисленными, ацетилирование, формилирование и т.д. кроме того, указанное производное может содержать одну или большее количество неклассических аминокислот.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации антитело-компонент предложенных в настоящем изобретении композиций сконструировано таким образом, чтобы содержать одну или большее количество свободных аминокислот -цистеинов с реакционноспособными в пределах нужного диапазона тиолами (например, от 0,6 до 1,0), при этом указанное антитело со встроенными цистеинами получают путем процесса, включающего замену одного или большего количества остатков аминокислот исходного антитела на цистеин. Согласно некоторым вариантам реализации один или большее количество свободных остатков аминокислоты цистеина расположены в легкой цепи. Согласно дополнительным вариантам реализации один или большее количество свободных остатков аминокислоты цистеина расположены в тяжелой цепи. Согласно дополнительным вариантам реализации один или большее количество свободных остатков аминокислоты цистеина расположены и в тяжелой, и в легкой цепях. Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело со встроенными цистеинами содержит свободный цистеин с показателем реакционноспособности тиолов в диапазоне от 0,6 до 1,0 и модификацию последовательности легкой цепи или тяжелой цепи, раскрытую в патенте США № 7855275. Согласно другим вариантам реализации антитело со встроенными цистеинами содержит свободный цистеин с показателем реакционноспособности тиолов в диапазоне от 0,6 до 1,0 и модификацию последовательности легкой цепи или тяжелой цепи, не раскрытую в патенте США № 7855275, содержание которого полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело сконструировано так, что оно содержит один или несколько свободных селеноцистеинов или других не встречающихся в природе аминокислот, способных к образованию дисульфидных связей. Содержащие их антитела и способы получения таких антител известны в данной области техники. См., например, источники: Hofer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 105(34):12451-12456 (2008); и Hofer et al., Biochem. 48(50): 12047-12057 (2009), каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Согласно некоторым вариантам реализации один или большее количество свободных остатков аминокислоты селеноцистеина расположены в легкой цепи. Согласно дополнительным вариантам реализации один или большее количество свободных остатков аминокислоты селеноцистеина расположены в тяжелой цепи. Согласно дополнительным вариантам реализации один или большее количество свободных остатков аминокислоты селеноцистеина расположены и в тяжелой, и в легкой цепях.

Согласно определенным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) были модифицированы таким образом, что они не вызывают неблагоприятного иммунного ответа у животного, подлежащего лечению, например, у человека. Согласно одному варианту реализации указанное антитело модифицировано таким образом, чтобы уменьшить его иммуногенность, с применением известных в данной области техник. Например, антитело-компоненты указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) могут быть гуманизированы, приматизированы, деиммунизированы или химеризованы. Указанные типы антител происходят из не принадлежащего человеку антитела, как правило, антитела мыши или примата, которое сохраняет или по существу сохраняет антиген-связывающие свойства исходного антитела, но является менее иммуногенным для человека. Это может достигаться

различными способами, включая:

(a) перенос не принадлежащих человеку полных переменных доменов на константные области человека для получения гибридных антител;

(b) перенос по меньшей мере части одной или большего количества не принадлежащих человеку определяющих комплементарность областей (областей CDR) в каркасные и константные области человека с сохранением или без сохранения ключевых каркасных остатков; или

(c) перенос не принадлежащих человеку полных переменных доменов, но с "маскировкой" участками, похожими на принадлежащие человеку участки, путем замены поверхностных остатков.

Такие способы раскрыты в источниках: Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 81:6851-6855 (1984); Morrison et al., Adv. Immunol. 44:65-92 (1988); Verhoeyen et al., Science 239:1534-1536 (1988); Padlan, Molec. Immun. 28:489-498 (1991); Padlan, Molec. Immun. 31:169-217 (1994), и в патентах США № 5585089, 5693761, 5693762 и 6190370, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Для снижения иммуногенности MRD-содержащего антитела может также применяться деиммунизация. В настоящем документе термин "деиммунизация" включает изменение MRD-содержащего антитела для модификации Т-клеточных эпитопов (см., например, опубликованные международные патентные заявки WO9852976A1 и WO0034317A2, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки). Например, анализируют последовательности VH и VL исходного антитела и получают "карту" эпитопов Т-клетки человека для каждой V-области, отражающей расположение эпитопов, соответствующих определяющим комплементарность областям (областям CDR) и других ключевых остатков в пределах указанной последовательности. Индивидуальные Т-клеточные эпитопы на карте Т-клеточных эпитопов анализируют для идентификации альтернативных вариантов замен аминокислот с незначительным риском изменения активности полученного антитела. Конструируют набор альтернативных вариантов последовательностей VH и VL, содержащих комбинаций замен аминокислот, и затем указанные последовательности включают в набор антител для применения в раскрытых в настоящем документе способах диагностики и лечения, функционирование которых затем тестируют. Как правило, получают и тестируют от 12 до 24 вариантов антител. Затем полные гены тяжелых и легких цепей, содержащих модифицированные V-области и С-области человека, клонируют в экспрессионные векторы, и полученные плазмиды вводят в клеточные линии для получения полного антитела. Затем указанные антитела сравнивают с применением подходящих биохимических и биологических анализов, и идентифицируют оптимальный вариант.

Многие другие антитела-компоненты указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) могут применяться в описанных в настоящем документе способах. Предполагается, что в настоящем изобретении могут применяться каталитические и некаталитические антитела. Например, антитело 38C2 представляет собой антитело-секретирующую гибридому и было ранее описано в опубликованной международной заявке WO97/21803. 38C2 содержит антитело-комбинирующий сайт, который катализирует реакцию альдольного присоединения между алифатическим донором и альдегидным акцептором. В сингенной модели нейробластомы на мышах системное введение пролекарства этопозида и внутриопухолевое инъецирование антитела 38C2 ингибировали рост опухоли.

Мишень антитела MRD-содержащего антитела (т.е. мишень антигенсвязывающего домена) может представлять собой любую молекулу, с которой желательно взаимодействие гибрида MRD-антитела. Например, мишень антитела может представлять собой растворимый фактор, или мишень антитела может представлять собой трансмембранный белок, такой как рецептор клеточной поверхности. Мишень антитела может также представлять собой внеклеточный компонент или внутриклеточный компонент. Согласно определенным вариантам реализации указанная мишень антитела представляет собой фактор, который регулирует пролиферацию клеток, дифференцировку или выживаемость. Согласно другим вариантам реализации указанная мишень антитела представляет собой цитокин. Согласно другому неисключительному варианту реализации указанная мишень антитела представляет собой фактор, который регулирует ангиогенез. Согласно другому неисключительному варианту реализации указанная мишень антитела представляет собой фактор, который регулирует одну или большее количество иммунных ответов, таких как аутоиммунная реакция, воспаление и иммунный ответ против раковых клеток. Согласно другому неисключительному варианту реализации указанная мишень антитела представляет собой фактор, который регулирует клеточную адгезию и/или межклеточные взаимодействия. Согласно определенным неисключительным вариантам реализации мишень антитела представляет собой молекулу клеточной сигнализации. Способность антитела связываться с мишенью и блокировать, повышать или влиять на биологическую активность мишени антитела может быть определена с применением известных в данной области техники анализов, биологических анализов и/или моделей на животных для оценки такой активности, или путем их рутинной модификации.

Согласно некоторым вариантам реализации указанное мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой связанный с заболеванием антиген. Указанный антиген может представлять собой антиген, характерный для конкретного ракового заболевания, и/или конкретного типа клеток (например,

гиперпролиферативной клетки), и/или конкретного патогена (например, бактериальной клетки (например, возбудителя туберкулеза, оспы, сибирской язвы)), вируса (например, ВИЧ), паразита (например, малярии, лейшманиоза), грибной инфекции, плесневого гриба, микоплазмы, прионного антигена или антигена, связанного с расстройством иммунной системы.

Согласно некоторым вариантам реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой мишень, которая была валидирована в модели на животных или в клинических условиях.

Согласно другим вариантам реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой раковый антиген.

Согласно одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой: рТцФР-А, рТцФР-В, ТцФР-А, ТцФР-В, ТцФР-СС, ТцФР-С, ТцФР-Д, рФРЭС-1, рецептор ФРЭС-2, рФРЭС-3, ФРЭС-С, ФРЭС-Д, нейропиплин 2 (NRP2), бетацеллюлин, плацентарный фактор роста (ПФР), RET-белок ("rearranged during transfection"), тирозинкиназу с иммуноглобулиноподобным и ЭФР-подобным доменом 1 (TIE1), TIE2 (TEK), углеводный антиген 125 (CA125), CD3, CD4, CD7, CD10, CD13, CD25, CD32, CD32b, CD44, CD49e (интегрин альфа-5), CD55, CD64, CD90 (THY1), CD133 (проминин 1), CD147, CD166, CD200, альдегиддегидрогеназа 1 (ALDH1), эпителиальный специфический антиген (ESA), белок "Sonic hedgehog" (SHH), белок "Desert hedgehog" (DHH), белок "Indian hedgehog" (IHH), белок "patched 1" (PTCH1), белок "smoothened" (SMO), WNT1, WNT2B, WNT3A, WNT4, WNT4A, WNT5A, WNT5B, WNT7B, WNT8A, WNT10A, WNT10B, WNT16B, связанный с рецептором липопротеинов низкой плотности белок 5 (LRP5), связанный с рецептором липопротеинов низкой плотности белок 6 (LRP6), FZD1, FZD2, FZD4, FZD5, FZD6, FZD7, FZD8, Notch, Notch1, Notch3, Notch4, дельта-подобный лиганд

4 (DLL4), Jagged, Jagged1, Jagged2, Jagged3, TNFSF1 (ФНО-бета, LTa), TNFSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFSF1B (TNFR2), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFSF6 (Fas, CD95), TNFSF6B (DcR3), TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), TNFSF7 (CD27), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFSF8 (CD30), TNFSF11 (RANKL), TNFSF11A (RANK), TNFSF12 (TWEAK), TNFSF12 (TWEAKR), TNFSF13 (APRIL), TNFSF13B (BLYS), TNFSF13B (TACI), TNFSF13C (BAFFR), TNFSF15 (TL1A), TNFSF17 (BCMA), TNFSF19L (RELТ), TNFSF19 (TROY), TNFSF21 (DR6), TNFSF25 (DR3), ангиопоетин 1 (ANG1 (ANGPT1)), ANG3 (ANGPTL1), ANG4 (ANGPT4), ИЛ-1-альфа, ИЛ-1-бета, рИЛ-11, рИЛ-12, ИЛ-2, рИЛ-2, ИЛ-5, рИЛ-5, ИЛ-6, рИЛ-6, ИЛ-8, рИЛ-8, ИЛ-10, рИЛ-10, ИЛ-12, рИЛ-12, ИЛ-13, рИЛ-13, ИЛ-15, рИЛ-15, ИЛ-18, рИЛ-18, ИЛ-19, рИЛ-19, рИЛ-21, ИЛ-23, рИЛ-23, фактор ингибирования миграции (MIF), XAG1, XAG3, REGIV, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-3, ФРФ-4, рецептор ФРФ-1 (рФРФ-1), рФРФ-2, рФРФ-3, подобную рецептору активина киназу (ALK),

подобную рецептору активина киназу-1 (ALK1), ALK7, молекулу клеточной адгезии активированных лейкоцитов (ALCAM), артемин, Ax1, ТФР-бета2, ТФР-бета3, рТФР-бета-1, рИФР-П, BMP2, BMP5, BMP6, BMPRI, GDF3, GDF8, GDF9, N-кадгерин, E-кадгерин, VE-кадгерин, NCAM, L1CAM (CD171), ганглиозид GM2, ганглиозид GD2, кальцитонин, простатический специфический сопряженный с G-белком рецептор (PSGR), DCC, CDCP1, CXCR2, CXCR7, хемокиновый рецептор 3 с CC-мотивом (CCR3), CCR5, CCR7, CCR10, хемокиновый лиганд с CXС-мотивом 1 (CXCL1), CXCL5, CXCL6, CXCL8, CXCL12, хемокиновый лиганд с CC-мотивом 3 (CCL3), CCL4, CCL5, CCL11, клаудин 1, клаудин 2, клаудин 3, клаудин 4, трансмембранный белок с EGF-подобным и двумя фоллистатин-подобными доменами (TMEFF2), нейрегулин, макрофагальный колониестимулирующий фактор (МКСФ), колониестимулирующий фактор (КСФ), рецептор колониестимулирующего фактора (CSFR, fins), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (ГКСФ), рецептор гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (рГКСФ), молекулы адгезии базальных клеток (BCAM), HPV, hCG, SRIF, ПСА, FOLR2 (рецептор фолиевой кислоты бета), BRCA1, BRCA2, HLA-DR, ABCC3, ABCB5, HM1.24, LFA1, LYNX, S100A8, S100A9, фактор стволовых клеток (SCF), фактор фон Виллебранда, рецептор Lewis Y6, Lewis Y, CA G250 (CA9), интегрин $\alpha\beta 3$ (CNTO95), интегрин $\alpha\beta 5$, активин B1-альфа, рецептор лейкотриена B4 (LTB4R), нейротензиновый NT-рецептор (NTR), онкофетальный антиген 5T4, танасцин C, матриксную металлопротеиназу (MMP), MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, MMP14, MMP26, катепсин G, катепсин H, катепсин L, сульфатазу 1 (SULF1), сульфатазу 2 (SULF2), MET, UPA, MHC1, MN (CA9), TAG-72, TM4SF1, гепараназа (HPSE), синдекан (SDC1), эфрин B2, эфрин B4 или релаксин 2. Согласно еще одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой CD137, CD137L, CD152, CD160, CD272, CD273, CD274, CD275 (лиганд индуцируемого костимулятора Т-клеток (ICOSL)), CD276, рецептор CD276, CD278 (индуцируемый костимулятор Т-клеток (ICOS)), CD279, B7-H4, рецептор B7H4, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CCL17, CCL21, CCL22, ИЛ-35, TNFSF10b (DR5) или гуанилатциклазу 2C (GUC2c, MECIL). MRD, который связывается с одной из перечисленных

выше мишеней, охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Предполагается, что указанные выше и описанные в других местах в настоящем документе мишени антител и MRD являются иллюстративными и неограничивающими.

Согласно еще одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой CD19, CD22, CD30, CD33, CD38, CD44v6, TNFSF5 (лиганд CD40), TNFRSF5 (CD40), CD52, CD54 (молекулу межклеточной адгезии (ICAM)), CD74, CD80, CD200 EPCAM (EGP2), нейропин-1 (NRP1), TEM1, мезотелин, ТРФ-бета 1, рецептор II трансформирующего фактора роста β (рТФР- β , рТФР-бета-II), фосфатидилсерин, рецептор фолиевой кислоты альфа (FOLR1), TNFRSF10A (TRAIL R1 DR4), TNFRSF10B (TRAIL R2 DR5), CXCR4, CCR4, CCL2, ФРГ, CRYPTO, VLA5, TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF9 (41BB), связанный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA4), HLA-DR, ИЛ-6, рецептор 4 суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей (TNFSF4, лиганд OX40), TNFRSF 4 (OX40), MUC1, MUC18, муцин CanAg, ганглиозид GD3, содержащий ЭФР-подобный домен белок 7 (EGFL7), рецептор ТцФР-альфа, ИЛ-21, ИФР-1, ИФР-2, CD117 (cKit), простатический специфический мембранный антиген (ПСМА), SLAMF7, раково-эмбриональный антиген (РЭА), белок активации фибробластов (FAP), интегрин $\alpha\beta3$ или интегрин $\alpha5\beta3$. Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой CD70, LAG3 или KIR. MRD, которые связываются с одной из перечисленных выше мишеней, охвачены настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно конкретным вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание мишени с антителом, выбранным из: сиплизумаба к CD2 (например, MEDI-507, MedImmune), блинатумаба к CD19 CD3 (например, MT103, Micromet/MedImmune); XMAB®5574 к CD19 (Xencor), SGN-19A к CD19 (Seattle Genetics), ASG-5ME (Agenesis и Seattle Genetics), MEDI-551 к CD19 (MedImmune), эпатузумаба к CD22 (например, hLL2, Immunomedics/UCB), инотузумаба озогамидина к CD22 (Pfizer), иратумаба к CD30 (например, SGN-30 (Seattle Genetics) и MDX-060 (Medarex)), XMAB®2513 к CD30 (Xencor), брентуксимаба ведотина к CD30 (например, SGN-35, Seattle Genetics), гемтузумаба озогамидина к CD33 (например, MYLOTARG®, Pfizer), линтузумаба к CD33 (например, антитела Seattle Genetics), MOR202, CD38 (MorphoSys), даратумаба к CD38 (например, антитело Genmab), CP870893 к CD40 (Pfizer), дацетумаба к CD40 (например, SGN40, Seattle Genetics), ANTOVA® к CD40 (Biogen Idec), лукатумаба к CD40 (например, HCD122, Novartis) XMAB®5485 к CD40 (Xencor), тенеликсимаба, руплизумаба к CD40L (например, ANTOVA®), биватумаба мертанзина к CD44v6, алемтузумаба к CD52 (например, CAMPATH®/MABCAMPATH®, Genzyme/Bayer), BI505 к молекуле межклеточной адгезии ICAM1 (Bioinvent), милатумаба к CD74 (например, антитело от Immunomedics), галиксимаба к CD80 (Biogen Idec), BMS663513 к 4-1BB (Bristol-Myers Squibb), антитело Alexion к CD200 (Alexion), едреколомаб к EPCAM (например, MAb17-1A, PANOREX® (GlaxoSmithKline), AT003 к EPCAM (Affitech)), адекватумаба к EPCAM (например, MT201, Micromet), опортумаба монатокса к EPCAM, антитела против NRP1 Genentech, MORAB004 к TEM1 (Morphotek), MORAB009 против мезотелина (Morphotek), лерделиумаба к ТФР-бета-1 (например, CAT-152, Cambridge Antibody Technology), метелиумаба к ТФР-бета-1 (например, CAT-192, Cambridge Antibody Technology), антитела против рТФР- β ImClone, бавитуксимаба к фосфатидилсерину (например, антитела Peregrine (Peregrine Pharmaceuticals)), AT004 к фосфатидилсерину (Affitech), AT005 к фосфатидилсерину (Affitech), MORAB03 к рецептору фолиевой кислоты альфа (Morphotek), фарлетумаба к раковому рецептору фолиевой кислоты альфа (например, MORAB003, Morphotek), CS1008 к DR4 (Sankyo), мапатумаба к DR4 (например, HGS-ETR1, Human Genome Sciences), LBY135 к DR5 (Novartis), AMG66 к DR5 (Amgen), апомаба (Aromab) к DR5 (Genentech), PRO95780 (Genentech), лексатумаба к DR5 (например, HGS-ETR2, Human Genome Sciences), конатумаба к DR5 (например, AMG655, Amgen), тигатумаба к DR5 (например, CS-1008), AT009 к CXCR4 (Affitech), AT008 к CCR4 (Affitech), CNTO-888 к CCL2 (Centocor), AMG102 к ФРГ (Amgen), антитела к CRYPTO (Biogen Idec), антитела M200 к VLA5 (Biogen Idec), ипилиумаба к CTLA4 (например, MDX-010, Bristol-Myers Squibb/Medarex), белатасепта к CTLA4 ECD (например, CP-675206, Pfizer), IMMU114 HLA-DR (Immunomedics), аполизумаба к HLA-DR, тоцилизумаба к ИЛ-6 (например, АСТЕМР®/ROACTREMRA®, Hoffman-La Roche), OX86 к OX40, пемтумаба к PEM/MUC1 (Theragyn), ABX-MA1 к MUC-18 (Abgenix), кливатумаба к MUC-18 (например, hPAM4, Immunomedics), кантузумаба мертанзина к муцину CanAg, эक्रमексимаба (Ludwig Institute), антитела против EGFL7 от Genentech, AMG820 к CSFR (Amgen), оларатумаба к рецептору ТцФР-альфа (например, антитела Imclone (Imclone)), антитела к ИЛ-21 Zymogenetics (Zymogenetics), MEDI-573 к ИФР-1/ИФР-2 (MedImmune), AMG191 к cKit (Amgen), этарацизумаба (например, MEDI-522, MedImmune) и MLN591 к ПСМА (Millennium Pharmaceuticals), элотумаба к SLAMF7 (например, HuLuc63, BMS), лабетумаба к

РЭА (CEA-CIDE®, Immunomedics), сибротузимаба к FAP, CNTO95 к интегрину $\alpha\upsilon\beta\text{S}$ (Centocor), VI-TAXIN® к интегрину $\alpha\upsilon\beta\text{3}$ (MedImmune) и волоксимаба к $\alpha\text{5}\beta\text{1}$ (мишени антитела выделены курсивом). MRD, которые конкурируют за связывание мишени с одним из указанных выше антител, охвачены настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание мишени с антителом, выбранным из: MDX-1342 к CD19 (BMS), SGN-CD19A к CD19 (Seattle Genetics), антитела против CD20, описанного в патенте США № 5500362, офатумумаба к CD20 (например, ARZERRA®, GENMAB), велтузимаба к CD20 (hA20, Takeda и Nycomed), PRO70769 к CD20 (Genentech; см. например, международную заявку № PCT/US2003/040426), AMG780 к Tie2/Ang1 (Amgen), REGN910 к ANG2 (Regeneron) и антитело против CD22, описанное в патенте США № 5789554 (Immunomedics), лумиликсимаба к CD23 (например, IDEC152, Biogen), IDEC-152 к CD23 (Biogen), MDX-1401 к CD30 (BMS), HeFi-1 к CD30 (NCI), даратумумаба к CD38, антитела против CD-40, описанное в опубликованной международной заявке № WO2007124299 (Novartis), IDEC-131 к CD40L (Biogen), MDX-1411 к CD70 (BMS), ADC SGN-75 к CD70 (Seattle Genetics), ADC HuMax-CD74™ к CD74 (Genmab), IDEC-114 к CD80 (Biogen), TRC105 к CD105/эндоглину (Tacon), ABX-CBL к CD747 (Amgen), RG1HuMax-TF™ к тканевому фактору (TF) (Genmab), HuMax-Her2™ к ErbB2 (Genmab), трастузимаба-DM1 к ErbB2-DM1 (Genentech), AMG888 к HER3 (Amgen и Daiichi Sankyo), HuMV833 к ФРЭС (Tsukuba Research Lab, см., например, опубликованную международную заявку № WO/2000/034337), IMC-18F1 к рФРЭС-1 (Imclone), IMC-1C11 к рФРЭС (Imclone), DC101 к рецептору ФРЭС-2 (Imclone), KSB-102 к рЭФР (KS Biomedix), mAb-806 крЭФР (Институт Людвига по исследованию рака, "Ludwig Institute for Cancer Research"), MR1-1 к токсину рЭФР-вариант III (IVAX, National Cancer Institute), HuMax-рЭФР к рЭФР (Genmab, см., например, заявку на патент США № 10/172317), IMC-11F8 к рЭФР (Imclone), CDX-110 к рЭФР-вариант III (AVANT Immunotherapeutics), залумумаба к рЭФР (Genmab), 425, EMD55900 и EMD62000 к рЭФР (Merck KGaA, см., например, патент США № 5558864), ICR62 к рЭФР (Institute of Cancer Research, см., например, опубликованные международные заявки № WO95/20045), SC100 к рЭФР (Scancell и ISU Chemical), MOR201 к рФРФ-3 (Morphosys), ARGX-111 к c-Met (arGEN-X), HuMax-cMet™ к cMet (Genmab), GC-1008 к ТФР-бета-1 (Genzyme), MDX-070 к PCMA (BMS), huJ591 к PCMA (Cornell Research Foundation), muJ591 к PCMA (Cornell Research Foundation), GC1008 к ТФР-бета (Genzyme), NG-1 к Ep-CAM (Xoma), MOR101 к ICAM-1 (CD54) (Morphosys), MOR102 к ICAM-1 (CD54) (Morphosys), ABX-MA1 к MUC18 (Abgenix), HumaLYM (Intracel), HumaRAD-HN (Intracel), HumaRAD-OV (Intracel), ARGX-110 и ARGX-111 (arGEN-X), HuMax для лечения лимфомы (Genmab и Amgen), милатузимаба к CD74 (например, IMMU-115, IMMU-110; Immunomedics), HuMax для лечения рака к гепараназе I (Genmab), Hu3S193 к Lewis (y) (Wyeth, Ludwig Institute of Cancer Research), RAV12 к N-связанному углеводному эпитопу (Raven), нимотузимаба (TheraCIM, hR3; YM Biosciences, см., например, патенты США № 5891996 и 6506883), BEC2 к GD3 (Imclone), ⁹⁰Y такатузимаба тетраксетана к альфа-фетопротейну (например, FP-CIDE®, Immunomedics), KRN330 (Kirin), huA33 к A33 (Институт Людвига по исследованию рака), mAb 216 к гликозилированному эпитопу В-клеток (NCI), REGN421 к DLL4 (Regeneron), ADC ASG-5ME к SLC44A4 (AGS-5), ADC ASG-22ME к нектину-4, CDX-1307 (MDX-1307), hCGb (Celldex), белка, ассоциированного с паратиреоидным гормоном (PTH-rP)(UCB), MT293 к расщепленному коллагену (TRC093/D93, Tacon), KW-2871 к GD3 (Kyowa), KIR (1-7F9) к KIR (Novo), A27.15 к рецептору трансферрина (Salk Institute, см., например, опубликованную международную заявку № WO2005/111082) и E2.3 к рецептору трансферрина (Salk Institute). MRD, которые конкурируют за связывание мишени с одним из указанных выше антител, охвачены настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительным вариантам реализации одно из описанных выше антител представляет собой антитело MRD-содержащего антитела.

Согласно конкретным вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела представляет собой антитело, выбранное из: сиплизумаба к CD2 (например, MEDI-507, MedImmune), блинатумумаба CD19 CD3 (например, MT103, Micromet/MedImmune); XMAB®5574 к CD19 (Xencor), SGN-19A к CD19 (Seattle Genetics), ASG-5ME (Agenesys и Seattle Genetics), MEDI-551 к CD19 (MedImmune), эпратузимаба CD22 (например, hLL2, Immunomedics/UCB), инотузимаба озогамидина к CD22, иратумумаба к CD30 (например, SGN-30 (Seattle Genetics) и MDX-060 (Medarex)), XMAB®2513 к CD30 (Xencor), брентуксимаба ведотина к CD30 (например, SGN-35, Seattle Genetics), гемтузимаба озогамидина к CD33 (например, MYLOTARG®, Pfizer), линтузимаба CD33 (например, антитело от Seattle Genetics), MOR202 к CD38 (MorphoSys), даратумумаба к CD38 (например, антитело Genmab), CP870893 к CD40 (Pfizer), дацетузимаба к CD40 (например, SGN40, Seattle Genetics), ANTOVA® к CD40 (Biogen Idec), лукатумумаба к CD40 (например, HCD122, Novartis) XMAB®5485 к CD40 (Xencor), тенеликсимаба, руплизумаба к

CD40L (например, ANTOVA®), биватузумаба мертанзина CD44v6, алемтузумаба к CD52 (например, CAMPATH®/MABCAMPATH®, Genzyme/Bayer), BI505 к ICAM1 (Bioinvent), милатузумаба к CD74 (например, антитело от Immunomedics), галиксимаба к CD80 (Biogen Idec), BMS663513 к 4-1BB (Bristol-Myers Squibb), антитела Alexion к CD200 (Alexion), едреколомаба к EPCAM (например, MAb17-1A, PANOREX® (GlaxoSmithKline), AT003 к EPCAM (Affitech)), адекватумумаба к EPCAM (например, MT201, Micromet), опортузумаба монатокса к EPCAM, антитела против NRP1 от Genentech, MORAB004 к TEM1 (Morphotek), MORAB009 к мезотелину (Morphotek), лерделимумаба к ТФР-бета-1 (например, CAT-152, Cambridge Antibody Technology), метелимумаба к ТФР-бета-1 (например, CAT-192, Cambridge Antibody Technology), антитела против рТФР-β от ImClone, бавитуксимаба к фосфатидилсерину (например, антитела Peregrine (Peregrine Pharmaceuticals)), AT004 к фосфатидилсерину (Affitech), AT005 к фосфатидилсерину (Affitech), MORAB03 к рецептору фолиевой кислоты альфа (Morphotek), фарлетузумаба к раковому рецептору фолиевой кислоты альфа (например, MORAB003, Morphotek), CS1008 к DR4 (Sanyo), мапатумумаба к DR4 (например, HGS-ETR1, Human Genome Sciences), LBY135 к DR5 (Novartis), AMG66 к DR5 (Amgen), апомаба к DR5 (Genentech), PRO95780 (Genentech), лексатумумаба к DR5 (например, HGS-ETR2, Human Genome Sciences), конатумумаба к DR5 (например, AMG655, Amgen), тигатузумаба (например, CS-1008), AT009 к CXCR4 (Affitech), AT008 к CCR4 (Affitech), CNTO-888 к CCL2 (Centocor), AMG102 к ФРГ (Amgen), антитела к CRYPTO (Biogen Idec), антитело M200 к VLA5 (Biogen Idec), ипилимумаба к CTLA4 (например, MDX-010, Bristol-Myers Squibb/Medarex), белатасепта к CTLA4 ECD (например, CP-675,206, Pfizer), IMMU114 к HLA-DR (Immunomedics), аполизумаба к HLA-DR, тоцилизумаба к рИЛ-6 (например, АСТЕМР®/РОАСТРЕМРА®, Hoffman-La Roche), OX86 к OX40, пемтумаба к PEM/MUC1 (Theragyn), ABX-MA1 к MUC-18 (Abgenix), кантузумаба мертанзина к муцину CanAg, экромексимаба (Ludwig Institute), антитела Genentech против EGFL7, AMG820 к CSFR (Amgen), оларатумаба к рецептору ТцФР-альфа (например, антитело от Imclone (Imclone)), антитела Zymogenetics к ИЛ-21 (Zymogenetics), MEDI-573 к ИФР-1/ИФР-2 (MedImmune), AMG191 к cKit (Amgen), этарацизумаба (например, MEDI-522, MedImmune), MLN591 к PCMA (Millennium Pharmaceuticals), элотузумаба к SLAMF7 (например, HuLuc63, PDL), лабетузумаба к РЭА (CEA-CIDE®, Immunomedics), сибротузумаба к FAP, CNTO95 к интегрину αvβ3 (Centocor), VITAXIN® к интегрину αvβ3 (MedImmune) и волоксимаба к α5β1 (например, M200, PDL и Biogen Idec).

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой ALK1. Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой PF-3446962 (Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PF-3446962. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PF-3446962 с ALK1. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание ALK1 с PF-3446962, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой CD22. Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой инотузумаб (например, инотузумаб озгомицина CMC-544, PF-5208773; Pfizer). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и инотузумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание инотузумаба с CD22. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание CD22 с инотузумабом также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой CRYPTO. Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело к CRYPTO от Biogen, доведенное до I фазы клинических испытаний (Biogen Idec). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело к CRYPTO от Biogen. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание антитела к CRYPTO от Biogen с CRYPTO. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание CRYPTO с антителом к CRYPTO от Biogen, также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой TNFSF5 (лиганд CD40). Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело к CD40L от Biogen, доведенное до I фазы клинических испытаний (Biogen Idec). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело к CD40L от Biogen. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание антитела к CD40L от Biogen с CD40L. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание CD40L с антителом к CD40L от Biogen, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой CD80. Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой галиксимаб (Biogen Idec). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и галиксимаб. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание галиксимаба с CD80. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание CD80 с галиксимабом, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD80 и мишень, выбранную из: CD2, CD3, CD4, CD19, CD20, CD22, CD23, CD30, CD33, TNFRSF5 (CD40), CD52, CD74, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), рФПЭС-1, рФПЭС-2 и ФПЭС. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD80 и мишень, выбранную из: CD3, CD4 и NKG2D. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CD80 и также по меньшей мере связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD80. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой галиксимаб. Согласно дополнительному варианту реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывает молекулу на поверхности клетки, а домены MRD MRD-содержащего антитела связывает TNFRSF10B (DR5) через один или большее количество эпитопов с валентностью, составляющей 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более.

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой МКCF. Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой PD-360324 (Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PD-360324. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PD-360324 с МКCF. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание МКCF с PD-360324, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой CD44. Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой PF-3475952 (Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PF-3475952. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PF-3475952 с CD44. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за CD44 связывание с PF-3475952, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой р-кадгерин (CDH3). Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой PF-3 732 010 (Pfizer).

Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PF-3 732 010. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PF-3 732 010 с р-кадгерином. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание р-кадгерина с PF-3 732 010, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно еще одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой ANG2 (ANGPT2). Согласно одному варианту реализации указанное антитело представляет собой MEDI3617 (MedImmune). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и MEDI3617. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание MEDI3617 с ANG2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание ANG2 с MEDI3617 также охвачены настоящим изобретением.

Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой ANG-2-связывающее антитело, раскрытое в патентах США №7063965, 7063840, 6645484, 6627415, 6455035, 6433143, 6376653, 6166185, 5879672, 5814464, 5650490, 5643755, 5521073; опубликованных заявках на патент США № 2011/0158978 (например, H4L4), 2006/0246071, 2006/0057138, 2006/0024297, 2006/0018909, 2005/0100906, 2003/0166858, 2003/0166857, 2003/0124129, 2003/0109677, 2003/0040463 и 2002/0173627; или опубликованные международные заявки № WO2006/020706, WO2006/045049, WO2006/068953 или WO2003/030833 (содержание каждой из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки). Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD,

которые конкурируют за связывание ANG2 с указанными антителами, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ANG2 и дополнительно связывает мишень, выбранную из:

ФРЭС (*т.е.* ФРЭС-А),

ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (*например*, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (*например*, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, ФНО, рФРФ-3, эфрина A-1 (EFNa1), эфрина A-2 (EFNa2), ANG1, ANG2, ИЛ-1, ИЛ-бета, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ФРГ, тромбоцитарного фактора роста альфа (ТрФР-А), ПФР, ТрФР-В, CXCL12, KIT, ГКСФ, CXCR4,

Тирозиновой протеинфосфатазы С рецепторного типа (PTPRC), TIE2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, Notch 1, DLL4, EGFL7, интегрин $\alpha 2\beta 1$, интегрин $\alpha 4\beta 1$, интегрин $\alpha 5\beta 1$, интегрин $\alpha v\beta 3$, ТФР-бета, матриксной металлопротеиназы 2 (MMP2), MMP7, MMP9, MMP12, урокиназного активатора плазминогена (PLAU), молекулы адгезии сосудистого эндотелия 1 (VCAM1), рТцФР-А и рТцФР-В. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (*например*, MRD-содержащие антитела), которые связывают ANG2 и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой MEDI3617, AMG780 или REGN910. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой H4L4.

Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ANG2 и ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ANG2 и ИЛ-6. Согласно другим вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ANG2 и ИЛ-1. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает ANG2, ИЛ-6 и ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает ANG2, ИЛ-1 и ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ANG2, ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО. Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ANG2 и ФНО, и антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой адалимумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело конкурирует с адалимумабом за связывание с ФНО.

Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ANG2. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой связывающее ANG2 антитело, выбранное из SAITAng-2-1, SAITAng-2-2, SAITAng-2-3, SAITAng-2-4 или другого антитела, раскрытого в опубликованной международной заявке WO2009/142460. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (*например*, MRD-содержащие антитела), содержащие антитело и/или 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание ANG2 с одним или большим количеством указанных антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает TIE2. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой связывающее TIE2 антитело, раскрытое в патентах США № 6365154 и 6376653; опубликованных заявках на патент США № 2007/0025993, 2006/0057138 и 2006/0024297; или опубликованные международные заявки № WO2006/020706, WO2000/018437 и WO2000/018804 (содержание каждой из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки). Мультивалентные и мультиспецифические композиции (*например*, MRD-содержащие антитела), содержащие антитело и/или 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание TIE с одним или большим количеством указанных антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно определенным вариантам реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой рЭФР (ErbB1), ErbB2, ErbB3, ErbB4, CD20, рецептор инсулиноподобного фактора роста-1, простатический специфический мембранный антиген, интегрин или cMet.

Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает рЭФР (ErbB1). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой ERBITUX® (IMC-C225). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и ERBITUX®. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание ERBITUX® с рЭФР. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе ингибирует димеризацию рЭФР. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой матузумаб (*например*, EMD 72000, Merck Serono) или панитумумаб (*например*, VECTIBIX®, Amgen). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и матузумаб или панитумумаб. Согласно еще

одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание матузумаба или панитумумаба с рЭФР. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело представляет собой ABX-EGF (Immunex) или MEDX-214 (Medarex). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и ABX-EGF или MEDX-214. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание ABX-EGF или MEDX-214 с рЭФР. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой залутумумаб (Genmab) или нимотузумаб (Bioscon). Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и залутумумаб (Genmab) или нимотузумаб (Bioscon). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание залутумумаба (Genmab) или нимотузумаба (Bioscon) с рЭФР. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рЭФР (ErbB1) и мишень, выбранную из: ФРГ, CD64, CDCP1, RON, cMET, ErbB2, ErbB3, рИФР-1, плацентарного фактора роста (ПФР), молекулы RGMa, рецептора ТцФР-альфа, (рТцФР-В), рецептора ФРЭС-1, рецептора ФРЭС-2, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), ИФР-1,2, ИФР-2, CD3, CD4, NKG2D и столбнячного анатоксина. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащие антитела) связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рЭФР. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой матузумаб, панитумумаб, MEDX-214 или ABX-EGF. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой нимотузумаб (Bioscon) или залутумумаб. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой эрбитукс (Erbbitux®).

Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ErbB1 и дополнительно связывает ErbB3. Согласно некоторым вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB1 и MRD MRD-содержащего антитела связывает ErbB3. Согласно конкретному варианту реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой цетуксимаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за ErbB1-связывающих с цетуксимабом. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой ErbB1-связывающее антитело, выбранное из: нимотузумаба (Bioscon), матузумаба (Merck KGaA), панитумумаба (Amgen), залутумумаба (Genmab), MEDX-214 и ABX-EGF. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB1 с антителом, выбранным из: нимотузумаба, матузумаба, панитумумаба и залутумумаба. Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB3 и MRD MRD-содержащего антитела связывает ErbB1. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой связывающее ErbB3 антитело, выбранное из MM121 (Merrimack), 8B8 (Genentech), AV203 (Aveo) и AMG888 (Amgen). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB3 с антителом, выбранным из MM121, 8B8, AV203 и AMG888.

Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело специфически связывает ErbB2 (Her2). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой трастузумаб (например, Герцептин®, Genentech/Roche). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и трастузумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание трастузумаба с ErbB2. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 из перечисленных выше антител. Согласно другим вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывается с ErbB2. Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое специфически связывается с тем же эпитопом, что и антитело против ErbB2 трастузумаб (например, Герцептин®, Genentech). Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание ErbB2 антителом против ErbB2 трастузумабом. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело трастузумаб против ErbB2. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе ингибирует димеризацию HER2. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе ингибирует гетеродимеризацию HER2 с HER3 (ErbB3). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой пертузумаб (например,

OMNITARG® и phrMab2C4, Genentech). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и пертузумаб. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание ErbB2 пертузумабом. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой трастузумаб и 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD в MRD-содержащем антителе конкурентно ингибируют связывание ErbB2 пертузумабом.

Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой связывающее ErbB2 антитело, выбранное из группы: MDX-210 (Medarex), tgDCC-E1A (Targeted Genetics), MGAH22 (MacroGenics) и пертузумаб (OMNITARG™, 2C4; Genentech). MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, или 4 из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с по меньшей мере 1, 2, 3 или 4 из указанных выше антител. Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и дополнительно связывает ErbB3. Согласно некоторым вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB2 и MRD MRD-содержащего антитела связывает ErbB3. Согласно конкретному варианту реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой трастузумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB2 с трастузумабом. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой связывающее ErbB2 антитело, выбранное из: MDX-210 (Medarex), tgDCC-E1A (Targeted Genetics), MGAH22 (MacroGenics) и пертузумаба (OMNITARG™). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB2 с антителом, выбранным из: MDX-210, tgDCC-E1A, MGAH22 и пертузумаба. Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB3 и MRD MRD-содержащего антитела связывает ErbB2.

Согласно некоторым вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе содержит области CDR антитела трастузумаб против ErbB2. Последовательности CDR, VH и VL трастузумаба приведены в табл. 1.

Таблица 1

CDR	Последовательность
VL-CDR1	RASQDVNTAVAW (SEQ ID NO:59)
VL-CDR2	SASFLYS (SEQ ID NO:60)
VL-CDR3	QQHYTPPT (SEQ ID NO:61)
VH-CDR1	GRNIKDTYIH (SEQ ID NO:62)
VH-CDR2	RIYPTNGYTRYADSVKG (SEQ ID NO:63)
VH-CDR3	WGGDGFYAMDY (SEQ ID NO:64)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK LLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYT TPPTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO:65)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:66)

Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело специфически связывает ErbB3 (Her3). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой MM121 (Merrimack Pharmaceuticals) или AMG888 (Amgen). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и MM121 или AMG888. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание MM121 или AMG888 с ErbB3. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой AV-203 (AVEO). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и AV-203. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует свя-

зывание AV-203. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1 или обоими указанными выше антителами, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело специфически связывает ФРЭС (ФРЭС-А). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой бевацизумаб (например, Авастин®, Genentech/Roche). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и бевацизумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание бевацизумаба с ФРЭС-А. Согласно другому варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело представляет собой AT001 (Affitech). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и AT001. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание AT001 с ФРЭС-А. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с одним или обоими указанными выше антителами, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно некоторым вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе содержит области CDR антитела бевацизумаб против ФРЭС. Последовательности CDR, VH и VL бевацизумаба приведены в табл. 2.

Таблица 2

CDR	Последовательность
VL-CDR1	SASQDISNYLN (SEQ ID NO:72)
VL-CDR2	FTSSLHS (SEQ ID NO:73)
VL-CDR3	QQYSTVPWT (SEQ ID NO:74)
VH-CDR1	GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:75)
VH-CDR2	WINTYTGEPTYAADFKR (SEQ ID NO:76)
VH-CDR3	YPHYYGSSHWFYFDV (SEQ ID NO:77)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKV LIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSTV PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:78)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKG LEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAE DTAVYYCAKYPHYYGSSHWFYFDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:79)

Согласно другим конкретным вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает ФРЭС. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой бевацизумаб (например, Авастин®, Genentech). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и бевацизумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание бевацизумаба с ФРЭС. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой r84 (Peregrine) или 2C3 (Peregrine). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и r84 или 2C3. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание ФРЭС антителом r84 или 2C3. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или 3 из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФРЭС и дополнительно связывает ангиогенную мишень, выбранную из:

ФРЭС-В, ФРФ-1,

ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TNFSF2 (ФНО-альфа), рФРФ-3, EFNa1, EFNa2, ANG1, ANG2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ФРГ, TIE2, ТрФР-А, ПФР, ТрФР-В, CXCL12, KIT, ГКСФ, CXCR4, PTPRC, TIE2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, Notch 1, DLL4, EGFL7, интегрина $\alpha 2\beta 1$, интегрина $\alpha 4\beta 1$, интегрина $\alpha 5\beta 1$, интегрина $\alpha \nu \beta 3$, ТФР-бета, MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAUG, VCAM1, рТцФР-А и рТцФР-В.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФРЭС и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФРЭС. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой r85, 2C3 или AT001. Согласно конкретному варианту реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой бевацизумаб.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФРЭС и дополнительно связывает мишень, выбранную из: ИЛ-1-бета, фосфатидилсерина, TNFSF11 (RANKL), TNFSF12 (TWEAK), ИФР-1,2, ИФР-2, ИФР-1, DKK1, SDF2, CXCL3 (фракталики), склеростина и столбнячного анатоксина, и ФРГ. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФРЭС и дополнительно связывает мишень, выбранную из: ErbB3, рЭФР, cMet, ФРЭС, RON (MST1R), DLL4, CDCP1 CD318), NRP1, ROBO4, CD13, CTLA4 (CD152), ICOS (CD278), CD20, CD22, CD30, CD33, CD80 и рИЛ-6. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФРЭС и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФРЭС. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой r85, 2C3 или AT001. Согласно конкретному варианту реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой бевацизумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело специфически связывает рФРЭС-1. Согласно одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание афлиберцепта (Regeneron) с рФРЭС-1. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе ингибирует димеризацию рФРЭС-1. MRD, конкурирующий за связывание мишени с афлиберцептом, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с афлиберцептом, также охвачены настоящим изобретением. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело специфически связывает рецептор ФРЭС-2. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой рамуцирумаб (например, IMC1121B и IMC1C11, ImClone). Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе ингибирует димеризацию рецептора ФРЭС-2. Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и рамуцирумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание рамуцирумаба с рецептором ФРЭС-2. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание афлиберцепта с рецептором ФРЭС-2. MRD, конкурирующий за связывание мишени с рамуцирумабом, также охвачен настоящим изобретением.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с рамуцирумабом или афлиберцептом, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно другим вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывается с рецептором ФРФ (например, рецептором ФРФ-1 (рФРФ-1), рФРФ-2, рФРФ-3 или рФРФ-4). Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое специфически связывается с рецептором ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой IMC-A1 (Imclone). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и IMC-A1. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание IMC-A1 с рецептором ФРФ-1 (рФРФ-1). Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание FP-1039 (Five Prime) с лигандом ФРФ рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1). Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое специфически связывается с рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc). Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое специфически связывается с рФРФ-3. Согласно конкретному варианту ре-

лизации указанное антитело представляет собой IMC-A1 (Imclone). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PRO-001 (ProChon Biotech), R3Mab (Genentech) или 1A6 (Genentech). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PRO-001 (ProChon Biotech), R3Mab (Genentech) или 1A6 (Genentech). MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител или ловушек для лигандов, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1 или большим количеством указанных выше антител или ловушек для лигандов, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает CD20. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой ритуксимаб (например, RITUXAN®/MABTHERA®, Genentech/Roche/Biogen Idec). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и ритуксимаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание ритуксимаба с CD20. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело представляет собой GA101 (Biogen Idec/Roche/Glycart). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и GA101. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание GA101 с CD20. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело представляет собой PF-5230895 (SBI-087; Pfizer). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PF-5230895. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PF-5230895 с CD20. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой окрелизумаб (например, 2H7; Genentech/Roche/Biogen Idec). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и окрелизумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание окрелизумаба с CD20. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело выбрано из: обинутузумаба (например, GA101; Biogen Idec/Roche/Glycart), офатумумаба (например, ARZERRA® и HuMax-CD20 от Genmab), велтузумаба (например, IMMU-160, Immunomedics), AME-133 (Applied Molecular Evolution), SGN35 (Millennium), TG-20 (GTC Biotherapeutics), афутузумаба (Hoffman-La Roche) и PRO131921 (Genentech). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, выбранное из: обинутузумаба, офатумумаба, велтузумаба, AME-133, SGN35, TG-20 и PRO131921. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание CD20 антителом, выбранным из: обинутузумаба, офатумумаба, велтузумаба, AME-133, SGN35, TG-20, афутузумаба и PRO131921. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 из указанных выше антител.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD20 и мишень, выбранную из: CD19, CD22, CD30, TNFRSF5 (CD40), CD52, CD74, CD80, CD138, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рЭФР, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), ФНО, фактора роста нервов (НРФ), ФРЭС, ИФР-1,2, ИФР-2, ИФР-1 и RANKL. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD20 и мишень, выбранную из: CD3, CD4 и NKG2D. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CD20 и также связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD20. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой антитело, выбранное из: ритуксимаба, GA101, PF-5230895, окрелизумаба, обинутузумаба, офатумумаба, велтузумаба, AME-133, SGN35, TG-20, афутузумаба и PRO131921.

Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело специфически связывает рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело выбрано из: циксutumумаба (например, IMC-A12, Imclone), фигитумумаба (например, CP-751,871, Pfizer), AMG479 (ганитумаб, Amgen/Millennium), BIIB022 (Biogen Idec), SCH 717454 (Schering-Plough) и R1507 (Hoffman La-Roche). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, выбранное из: циксutumумаба, фигитумумаба, AMG479, BIIB022, SCH 717454 и R1507. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание рИФР-1 антителом, выбранным из: циксutumумаба, фигитумумаба, AMG479, BIIB022, SCH 717454 и R1507. Согласно конкретному варианту реализации указанное антите-

ло представляет собой фигитумумаб. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и фигитумумаб. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание рИФР-1 фигитумумабом. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой ВІВ022. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и ВІВ022. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание рИФР-1 ВІВ022. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе ингибирует димеризацию рИФР-1. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание рИФР-1 с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание рИФР-1 с по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 из указанных выше антител.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) и мишень, выбранную из: рЭФР, ErbB2, ErbB3, рецептора ТцФР-альфа, β-рецептор тромбоцитарного фактора роста (рТцФР-В), сMet, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), CD20, NKG2D, ФРЭС, простагландина E2 (PGE2), ИФР-1, ИФР-2 и ИФР-1,2. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) и мишень, выбранную из: CD3, CD4 и NKG2D. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) и связывают 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела выбран из: циксутумумаба, фигитумумаба, AMG479, ВІВ022, SCH 717454 и R1507.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает мишень (например, лиганд, рецептор или вспомогательный белок), связанную с опосредованной эндогенным рецептором гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) транспортной системой (например, опосредованными рецептором инсулина, рецептором трансферрина, рецептором лептина, рецептором липопротеинов и рецептором ИФР транспортными системами) и способную проникать на мозговую сторону ГЭБ. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит 2, 3, 4, 5 или большее количество сайтов связывания (т.е. способна к мультивалентному связыванию) целевого антигена (например, лиганда, рецептора или вспомогательного белка), связанного с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой (например, опосредованными рецептором инсулина, рецептором трансферрина, рецептором лептина, рецептором липопротеинов и рецептором ИФР транспортными системами). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит единственный сайт связывания мишени, связанной с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2, 3, 4, 5 или большее количество единственных сайтов связывания мишени, связанной с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, расположенных на мозговой стороне ГЭБ (в спинномозговой жидкости). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело дополнительно связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, расположенных на мозговой стороне ГЭБ (в спинномозговой жидкости). Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связанных с неврологическим заболеванием или расстройством. Согласно конкретным вариантам реализации указанное неврологическое заболевание или расстройство выбрано из рака головного мозга, нейродегенеративного заболевания, шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БАС, рассеянного склероза, оптиконейромиелита и нейро-СПИДа (например, ВИЧ-ассоциированной деменции). Соответственно, настоящее изобретение охватывает способы лечения пациента путем введения терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции для лечения неврологического заболевания или расстройства, выбранного из рака головного мозга, нейродегенеративного заболевания, шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БАС, рассеянного склероза, оптиконейромиелита и нейро-СПИДа (например, ВИЧ-ассоциированной деменции). Согласно еще одному варианту реализации указанную мультивалентную и

моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения рака головного мозга, метастатического рака головного мозга или первичного рака головного мозга. Согласно дополнительным вариантам реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения неврологической опухоли, такой как глиома (например, глиобластома, мультиформной глиобластома (GBM) и астроцитомы), эпендимомы, олигодендроглиомы, нейрофиброма, саркома, медуллобластома, примитивная нейроэктодермальная опухоль, аденома гипофиза, нейробластома или рак мозговых оболочек (например, менингиома, менингосаркома и глиоматоз). Согласно конкретным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает способы лечения пациента путем введения терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции для лечения нейродегенеративного заболевания.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает опосредованную эндогенным рецептором ГЭБ транспортную систему, выбранную из опосредованных рецептором инсулина, рецептором трансферрина, рецептором лептина, рецептором липопротеинов и рецептором ИФР транспортных систем.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает рецептор трансферрина. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает мишень, выбранную из: рецептора липопротеинов низкой плотности 1 (LRP-1), лиганда LRP-1 или его функционального фрагмента или варианта, который связывает LRP-1, рецептора липопротеинов низкой плотности 2 (LRP-2), лиганда LRP-2 или его функционального фрагмента или варианта, который связывает LRP-1, белка трансферрина или его функционального фрагмента или варианта, рецептора инсулина, TMM30A, рецептора лептина, рецептора ИФР, лиганда рИФР или его функционального фрагмента или варианта, рецептора дифтерийного токсина, лиганда рецептора дифтерийного токсина или его функционального фрагмента или варианта, транспортера холина, комплекса, который связывает рецептор холина, транспортера аминокислот (например, LAT1/CD98, SLC3A2, и SLC7A5), лиганда транспортера аминокислот или его функционального фрагмента или варианта, рецептора конечных продуктов гликозилирования (RAGE), лиганда RAGE или его функционального фрагмента или варианта, SLC2A1 и лиганда SLC2A1 или его функционального фрагмента или варианта.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает рецептор конечных продуктов гликозилирования (RAGE). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает RAGE и мишень, выбранную из: А-бета, эндотелина 1, ФНО, ИЛ-6, МККФ, AGE, члена семейства S100, белка группы высокой мобильности бокс-1 (HMGB1), ЛПС и TLR2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции, которые связывают RAGE и также связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает RAGE.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает целевой антиген, связанный с опосредованной эндогенным рецептором гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) транспортной системой, и также связывает целевой антиген, выбранный из альфа-синуклеина, молекулы А семейства RGM (RGM A), NOGO A, рецептора NOGO (NgR), миелина гликопротеина олигодендроцитов (OMGr), миелин-ассоциированного гликопротеина (MAG), протеогликана хондроитинсульфата (CSPG), ингибирующих рост нейритов семафоринов (например, семафорина 3А и семафорина 4), эфрина, А-бета, AGE (S100 А, амфотерина), НРФ, растворимого А-В, агрекани, мидкина, нейрокана, версикана, фосфакана, Те38 и простагландина Е2 (PGE2), ИЛ-1, рИЛ-1, ИЛ-6, рИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-23, TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганда CD40), CD45RB, CD52, CD200, ФРЭС, VLA4, ФНО-альфа, интерферона гамма, ГМККФ, ФРФ, С5, CXCL13, CCR2, CB2, воспалительный белок 1-альфа макрофагов (MIP 1a) и моноцитарного хемоаттрактанта белка-1 (MCP-1). Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит единственный сайт связывания мишени, связанной с опосредованной эндогенным рецептором гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) транспортной системой и дополнительно связывает мишень, выбранную из альфа-синуклеина, RGM A, NOGO A, NgR, OMGr, MAG, CSPG, ингибирующих рост нейритов семафоринов (например, семафорина 3А и семафорина 4), эфрина, А-бета, AGE (S100 А, амфотерин), НРФ, растворимого А-В, агрекани, мидкина, нейрокана, версикана, фосфакана, Те38, простагландина Е2 (PGE2), ИЛ-1, рИЛ-1, ИЛ-6, рИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-23, TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганда CD40), CD45RB, CD52, CD200, ФРЭС, VLA4, ФНО-альфа, интерферона гамма, ГМККФ, ФРФ, С5, CXCL13, CCR2, CB2, MIP 1a и MCP-1.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят пациенту для лечения неврологического заболевания или расстройства, выбранного из рака головного мозга, нейродегенеративного заболевания, шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БАС, рассеянного склероза, оптиконеуромиелимита и нейро-СПИДа (напри-

мер, ВИЧ-ассоциированной деменции). Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания 2 или более перечисленных выше мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 2 сайта связывания 3 или большего количества мишеней. Согласно дополнительным вариантам реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с раковым заболеванием. Согласно дополнительному варианту реализации мишени, связываемые указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с 1, 2, 3, 4, 5 или большим количеством разных сигнальных путей или механизмов действия, связанных с раковым заболеванием. Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает интегрин. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело выбрано из: MEDI-522 к $\alpha\beta 3$ (VI-TAXIN®, MedImmune), CNTO 95 к $\alpha\beta 3$ (Centocor), JC7U к $\alpha\beta 3$ и волоциксимаба к $\alpha\beta 1$ (например, M200, PDL и Biogen Idec). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, выбранное из: MEDI-522, CNTO 95, JC7U $\alpha\beta 3$ и волоциксимаба. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание интегрина антителом, выбранным из: MEDI-522, CNTO 95, JC7U и M200. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой натализумаб (например, TSABRI®, Biogen Idec). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и натализумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание интегрина натализумабом. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает cMet. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело выбрано из: MetMab (OA-5D5, Genentech), AMG-102 (Amgen) и DN30. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, выбранное из: MetMab, AMG-102 и DN30. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует cMET связывание антителом, выбранным из: MetMab (OA-5D5), AMG-102 и DN30. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или 3 из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает cMet и антитело, выбранное из: 11E1, CE-355621, LA480 и LMH87. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, выбранное из: MetMab, AMG-102 и DN30. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует cMET связывание антителом, выбранным из: 11E1, CE-355621, LA480 и LMH87. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3 или 4 указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает cMET и мишень, выбранную из: ErbB2, ErbB3, рЭФР, рИФР-1, NRP1, RON, рТцФР-А, рТцФР-В, ФРЭС, рФРЭС-1, рФРЭС-2, ТФР-бета, рецептора -2 ТФР-бета, CD82, CD152, НРФ, BMP2, BMP4, BMP5, BMP9, BMP10, BMPR-1A, ALK1, $\alpha 3\beta 1$ интегрин и ФРГ. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают cMET и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает cMET. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой антитело, выбранное из: MetMab, AMG-102 и DN30. Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой антитело, выбранное из: 11E1, CE-355621, LA480 и LMH87.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает рецептор стимулирующего макрофаги белка 1 (MST1R, RON). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает RON и мишень, выбранную из: рЭФР, ErbB2, ErbB3, рецептора ФРЭС-1, рецептора ФРЭС-2, cMET, CXCR4, ФРЭС, MST, MTSP1, CDCP1, рецептора В-эфрина 2 (EPHB2), НРФ, CXCL12 и ФРГ (SF). Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают MST1R и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкрет-

ным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает MST1R. Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает ФРГ (SF). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой AMG-102 (Amgen) или SCH 900105 (AV-229, AVEO). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и AMG-102 (Amgen) или SCH 900105 (AV-229, AVEO). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание ФРГ AMG-102 (Amgen) или SCH 900105 (AV-229, AVEO). MRD, конкурирующий за связывание мишени с AMG-102 (Amgen) или SCH 900105 (AV-229, AVEO), также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или 3 из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФРГ и мишень, выбранную из: ErbB2, ErbB3, рЭФР, рИФР-1, NRP1, RON, рТцФР-A, рТцФР-B, ФРЭС, рФРЭС-1, рФРЭС-2, ТФР-бета, рецептора 2 ТФР-бета, CD82, CD152, HPФ, BMP2, BMP4, BMP5, BMP9, BMP10, BMPR-1A, ALK1, интегрин $\alpha\beta 1$, cMET, MST1R (RON), CXCR4, MST, MTSP1, CDCP1, EPHB2, HPФ, CXCL12, NRP1 и фосфатидилсерина. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФРГ и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФРГ. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой AMG-102 или SCH 900105.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает интегрин $\alpha\beta 1$ (VLA5). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой волоциксимаб (например, M200 Biogen Idec). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и волоциксимаб. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание интегрин $\alpha\beta 1$ волоциксимабом. MRD, конкурирующий за связывание интегрин $\alpha\beta 1$ с волоциксимабом, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание интегрин $\alpha\beta 1$ с волоциксимабом, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно еще одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой антиген, связанный с аутоиммунным расстройством, воспалительным или другим расстройством иммунной системы или связан с регуляцией иммунного ответа.

Согласно другому варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело повышает эффективность антигенпрезентирующих клеток (например, дендритных клеток). Согласно одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела выбрано из:

CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD27, CD28, CD30, CD30L,

TNFSF14 (LIGHT, лиганд HVEM), CD70, ICOS, ICOSL (B7-H2), CTLA4, PD-1, PDL1

(B7-H1), B7-H4, B7-H3, PDL2 (B7-DC), BTLA, CD46, CD80 (B7-1), CD86 (B7-2),

IL1A-DR, CD74, PD1, TNFRSF 4 (OX40), TNFRSF 9 (41BB), TNFSF4 (лиганд OX40),

TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFRSF 1B (TNFR2),

TNFRSF13B (TACI), TNFRSF13C (BAFFR), TNFRSF17 (BCMA), TNFRSF 18 (GITR),

MHC-1, TNFRSF5 (CD40), TLR4, TNFRSF14 (HVEM), Fc-гамма-RIIB и IL4R.

Согласно одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой иммуноингибирующую мишень, выбранную из: ИЛ-1, ИЛ-1-бета, рИЛ-1a, L-5, ИЛ-6, рИЛ-6, CD26L, CD28, CD80, FcRn и рецептора IIB Fc-гамма. MRD, который связывается с одной из перечисленных выше мишеней, охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает простагландин E2 (PGE2). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рИЛ-6 и мишень, выбранную из: рЭФР, рИФР-1, рИЛ-6, ФНО, HPФ, ИЛ-1-бета, ИЛ-6, ИЛ-17A, ФРЭС, ИЛ-15, ИЛ-18, S1P и A-бета. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают PGE2 и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает PGE2.

Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело модулирует иммунный ответ, гомеостаз иммунных клеток или поддержание иммунологической толерантности за счет мультиспецифического и мультивалентного связывания растворимых молекул, молекул клеточной

поверхности или ассоциированных с внеклеточным матриксом молекул. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает один или большее количество цитокинов или хемокинов, модулирующих иммунный ответ, гомеостаз иммунных клеток или поддержание иммунологической толерантности. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает один или большее количество цитокинов или хемокинов, выбранных из: ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, ИЛ-35, ИФН-гамма, ИФН-альфа, ИФН-бета, CCL17, CCL21, CCL22, CXCL9, CXCL10, CXCL11, ТРФ-бета, LIGHT и TL1a. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает хемокин, который модулирует иммунный ответ за счет миграции иммунных клеток. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает хемокин, выбранный из CCL17, CCL22 и CCL21. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает комбинацию растворимых факторов, модулирующих активность Т-лимфоцитов. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает комбинацию растворимых факторов, выбранную из: IL2 и ИФН-гамма; IL2 и ИФН-альфа; IL2 и ТФР-бета-1; ИФН-гамма и ТФР-бета-1; и ИФН-альфа и ТФР-бета-1. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает растворимый фактор, который модулирует экспрессию CD25 или внутриклеточную экспрессию FOXP3 в Т-лимфоцитах. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает два, три, четыре, пять или шесть цитокинов или хемокинов, модулирующих иммунный ответ, гомеостаз иммунных клеток или факторы поддержания иммунологической толерантности.

Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество ассоциированных с клеточной поверхностью молекул, модулирующих иммунный ответ, гомеостаз иммунных клеток, или поддержание иммунологической толерантности. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество ассоциированных с клеточной поверхностью молекул, выбранных из: лиганда-1 белка программируемой смерти (PDL1), PDL2, PD1, CD80, CD86, CTLA4, B7-H2, ICOS, B7-H3, B7-H4, HVEM, BTLA, MHC класса I, MHC класса II, KIR, TCR-альфа, TCR-бета, TCR-гамма, LAG3, CD137, C137L, OX40, OX40L, CD70, CD27, CD40, CD40L, GAL9, TIM3, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10 и A2aR. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество молекул клеточной поверхности, влияющих на миграцию иммунных клеток. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает молекулу, выбранную из CCR4, CCR7 и CXCR3. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает комбинацию молекул клеточной поверхности, модулирующую функцию Т-лимфоцитов. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает комбинацию растворимых факторов, выбранную из: CD25 и CTLA4; PD1 и CTLA4; B7-H3 и B7-H3R; B7-H4 и B7H4R; BTLA и HVEM; KIR и LAG3; A2aR и TIM3; TIM3 и CTLA4; PDL1 и PD1; PDL2 и PD1; и CD80 и CD86. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело действует как антагонист двух или более ингибирующих сигналов, доставляемых в Т-лимфоциты через ингибирующие рецепторы. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело действует как антагонист двух или более ингибирующих сигналов, доставляемых в Т-лимфоциты, включая сигнал, доставляемый через ингибирующий рецептор, выбранный из: PD1, CTLA4, BTLA, HVEM, KIR, LAG3, TIM3 и A2aR. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело усиливает костимулирующие сигналы, доставляемые в Т-лимфоциты через один или большее количество костимулирующих рецепторов. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело усиливает два или большее количество костимулирующих сигналов, доставляемых в Т-лимфоциты, включая сигнал, доставляемый через костимулирующий рецептор, выбранный из: CD28, ICOS, OX40 и CD27. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает молекулу, которая модулирует экспрессию CD25 или FOXP3 в Т-лимфоцитах. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает молекулу, которая модулирует экспрессию CD39 на Т-лимфоцитах. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает две, три, четыре, пять или шесть ассоциированных с клеточной поверхностью молекул, модулирующих иммунный ответ, гомеостаз иммунных клеток или поддержание иммунологической толерантности.

Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество молекул клеточной поверхности экспрессируемых на антигенпрезентирующих клетках. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество молекул клеточной поверхности, выбранных из PDL1, PDL2, CD80, CD86, B7RP1, B7-H3, B7-H4, HVEM, CD137L, OX40, CD70 и GAL3. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает молекулу на антигенпрезентирующих клетках, модулирующую экспрессию CD25 или FOXP3 в Т-лимфоцитах человека. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает комбинацию молекул на поверхности вспомогательной клетки. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-

содержащее антитело связывает комбинацию молекул, выбранную из:

CD80 и CD86; B7-H3 и B7-H4; PDL1 и PDL2; HVEM и B7-H2;
CD137L и HVEM; GAL9 и OX40L; HVEM, PDL1 и PDL2; CD80, CD86 и HVEM; и
B7-H3, B7-H4 и B7-H2.

MRD-содержащее антитело может связывать одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или большее количество молекул клеточной поверхности, экспрессируемых на антигенпрезентирующих клетках. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество молекул клеточной поверхности на поверхности антигенпрезентирующих клеток и одну или большее количество молекул клеточной поверхности, экспрессируемых на поверхности Т-лимфоцитов. MRD-содержащее антитело может связывать комбинацию одной, двух, трех или четырех молекул клеточной поверхности, экспрессируемых на поверхности антигенпрезентирующих клеток человека, и одной, двух, трех или четырех молекул клеточной поверхности, экспрессируемых на поверхности Т-лимфоцитов человека. Согласно предпочтительному варианту реализации указанная комбинация молекул, связываемая указанным MRD-содержащим антителом, оказывает общие костимулирующие или ингибирующие эффекты на Т-лимфоциты. Согласно другому предпочтительному варианту реализации указанная комбинация молекул, связываемая указанным MRD-содержащим антителом, стабилизирует межклеточные контакты между иммунными клетками.

Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело действует как антагонист функции регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) за счет антагонистического действия на растворимые молекулы и/или рецепторы клеточной поверхности. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество растворимых молекул и/или один или большее количество рецепторов клеточной поверхности, которые согласованным образом усиливают функцию Treg. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает клетки Treg и ингибирует их функцию. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает клетки Treg и усиливает их функцию. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает одну или большее количество молекул, выбранных из:

PDL1,
PDL2, PD1, CD80, CD86, CTLA4, B7-H2, ICOS, B7-H3, B7-H4, HVEM, BTLA, MHC
класса I, MHC класса II, KIR, TCR-альфа, TCR-бета, TCR-гамма, LAG3, CD137,
C137L, OX40, OX40L, CD70, CD27, CD40, CD40L, GAL9, TIM3, TLR1, TLR2, TLR3,
TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10 и A2aR.

Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает клетки Treg и действует как антагонист активности растворимого фактора, которые действуют на клетки Treg.

Мультивалентные и мультиспецифические связывающие свойства MRD-содержащих антител согласно настоящему изобретению позволяют осуществлять рациональный дизайн терапевтических средств, преимущественно направляющих *in vivo* локализацию MRD-содержащего антитела в специфические анатомические области, где присутствует мишень антитела и/или MRD-компонентов MRD-содержащих антител. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело локализуется в области воспаления путем связывания антитело-комбинирующего сайта с молекулой, для которой характерна повышенная экспрессия в области воспаления. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт связывает молекулу, выбранную из: молекулы адгезии, интегрина, *madCam*, CD44 и CD45. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело дополнительно содержит MRD, который связывается с молекулой клеточной поверхности на Treg, которая усиливает активность Treg. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает костимулирующий рецептор, выбранный из: CD28, ICOS, OX40 и CD27. Согласно конкретным вариантам реализации сродство к связыванию MRD-содержащего антитела в отношении мишени в сайте воспаления *in vivo* по меньшей мере в 3, по меньшей мере в 10, по меньшей мере в 30 или по меньшей мере в 100 раз выше сродства MRD-содержащего антитела в отношении молекулы клеточной поверхности Treg. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ преимущественной нацеленной локализации *in vivo* MRD-содержащего антитела в место локализации опухоли. Согласно некоторым вариантам реализации указанный антитело-комбинирующий сайт MRD-содержащего антитела связывает опухлеассоциированный антиген, а MRD MRD-содержащего антитела связывает молекулу клеточной поверхности на Treg, которая подавляет функцию Treg. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает костимулирующий рецептор, выбранный из: PD1, CTLA4, BTLA, HVEM, KIR, LAG3, TIM3 и A2aR. Согласно еще одному варианту реализации указанный антитело-комбинирующий сайт MRD-содержащего антитела связывает опухлеассоциированный антиген, а MRD связывает молекулу клеточной поверхности на Treg, которая подавляет функцию Treg. Согласно допол-

нительному варианту реализации указанный антитело-комбинирующий сайт связывает опухолеассоциированный антиген, а MRD MRD-содержащего антитела связывает молекулу клеточной поверхности на эффекторных Т-лимфоцитах, которая усиливает активность эффекторных Т-клеток. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает костимулирующий рецептор, выбранный из: CD28, ICOS, OX40 и CD27. Согласно конкретным вариантам реализации сродство к связыванию MRD-содержащего антитела в отношении опухолеассоциированного антигена *in vivo* меньшей мере в 3, по меньшей мере в 10, по меньшей мере в 30 или по меньшей мере в 100 раз выше сродства MRD-содержащего антитела в отношении молекулы клеточной поверхности Treg. Согласно дополнительному варианту реализации указанный антитело-комбинирующий сайт и/или MRD MRD-содержащего антитела связывает опухолеассоциированный антиген, который доставляет ингибирующий сигнал в Т-лимфоцит. Согласно конкретным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD80 или CD86. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает B7H1, B7H3 или B7H4.

Согласно другому варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой иммуностимулирующую мишень (например, агонист ассоциированной с мишенью активации иммунных клеток (такой как TNFRSF9 (41BB) или TNFRSF5 (CD40)) или антагонист ингибирующей иммунной контрольной точки (такой как ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA-4)). Согласно одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой иммуностимулирующую мишень, выбранную из:

CD25, CD28, CTLA-4, PD1, PDL1, B7-H1, B7-H4, ИЛ-10,

ТРФ-бета, TNFSF4 (лиганд OX40), TNFRSF 4 (OX40), TNFSF5 (лиганд CD40),

TNFRSF5 (CD40), TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF 9 (41BB), TNFSF14 (LIGHT,

Лиганд HVEM), TNFRSF 14 (HVEM), TNFSF15 (TL1A), TNFRSF25 (DR3), TNFSF18

(лиганд GITR) и TNFRSF 18 (GITR).

Согласно еще одному варианту реализации указанная мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой иммуностимулирующую мишень, выбранную из: CD272 (BTLA), TIM3, GAL9, B7-DC (PDL2) и рецептор PDL2. MRD, который связывается с одной из перечисленных выше мишеней, охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает 2, 3 или все 4 мишени, выбранные из CTLA-4, TNFRSF 18 (GITR), 4-1BB и TNFRSF5 (CD40). Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает CTLA-4 и TNFRSF 9 (41BB). Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает CTLA-4 и TNFRSF 18 (GITR). Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает CTLA-4 и TNFRSF5 (CD40). Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает TNFRSF5 (CD40) и TNFRSF 9 (41BB). Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает TNFRSF 4 (OX40) и TNFRSF 9 (41BB). Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает PD1 и B7-H1. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело усиливает иммунный ответ, такой как противоопухолевый ответ иммунной системы или иммунный ответ на вакцину.

Согласно другому варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой цитокин, выбранный из: ИЛ-1-альфа, ИЛ-1-бета, ИЛ-18, TNFSF2 (ФНО-альфа), лимфотоксина альфа (LT-альфа), лимфотоксина бета (LT-бета), TNFSF11 (RANKL), TNFSF13B (BLYS), TNFSF13 (APRIL), ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17A, ИЛ-23, онкостатина М, ТРФ-бета, BMP2-15, ТцФР (например, ТцФР-А, ТцФР-В, ТцФР-СС, ТцФР-С, ТцФР-Д), члена семейства ФРФ (например, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b и ФРФ-19), ФРЭС (например, ФРЭС-А и ФРЭС-В), MIF и интерферона типа I. MRD, который связывается с одной из перечисленных выше мишеней, охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением.

Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 из перечисленных выше мишеней.

Согласно другому варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой цитокин, выбранный из:

ФНО, CD25, CD28, CTLA-4, PD1, PDL1, B7-H1, B7-H4, ИЛ-10, ТРФ-бета, TNFSF4 (лиганд OX40), TNFRSF 4 (OX40), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFRSF5 (CD40), TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF9 (41BB), TNFSF14 (LIGHT, лиганд HVEM), TNFRSF14 (HVEM), TNFSF15 (TL1A), TNFRSF25 (DR3), TNFSF18 (лиганд GITR), и TNFRSF 18 (GITR).

Настоящим изобретением охвачен MRD, который связывается с одной из перечисленных выше мишеней. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 из перечисленных выше мишеней.

Согласно одному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой

рИЛ-1a, рИЛ-1b, ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-10, ИЛ-11, ИЛ-15, ИЛ-16, ИЛ-17, ИЛ-17A, ИЛ-17F, ИЛ-18, ИЛ-19, ИЛ-25, ИЛ-32, ИЛ-33, интерферон-бета, SCF, BCA1/CXCL13, CXCL1, CXCL2, CXCL6, CXCL13, CXCL16, C3AR, C5AR, CXCR1, CXCR2, CXCR3 CCR1, CCR3, CCR4, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, ChemR23, CCL3, CCL5, CCL11, CCL13, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, MPL, гликопротеин 130 (GP130), TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8, TLR9, TREM1, TREM2, FcRn, Fc-Гамма-RIIB,

онкостатин М, лимфотоксин альфа (LTa), субъединицу интегрин бета 7, CD49a (интегрин альфа 1), интегрин $\alpha 5\beta 3$, MIF, ESM1, WIF1, катепсин В, катепсин D, катепсин К, катепсин S, TNFSF2 (ФНО-альфа), TNFSF3 (LTb), TNFRSF 3 (LTBR),

TNFSF6 (лиганд Fas), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF6B (DcR3), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFRSF8 (CD30), TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF 9 (41BB), TNFSF11 (RANKL), TNFRSF11A (RANK), TNFSF14 (LIGHT, Лиганд HVEM), TNFRSF14 (HVEM), TNFRSF16 (NGFR), TNFSF18 (лиганд GITR), TNFRSF18 (GITR), TNFRSF19L (RELT), TNFRSF19 (TROY), TNFRSF21 (DR6), CD14, CD23 CD25, CD28, CD36, CD36L, CD39, CD52, CD91, CD153, CD164, CD200, CD200R, BTLA, CD80 (B7-1), CD86 (B7-2), B7h, ICOS, ICOSL (B7-H2), MHC, CD, B7-H3, B7-H4, B7x, SLAM, KIM-1, SLAMF2, SLAMF3, SLAMF4, SLAMF5, SLAMF6 или SLAMF7. MRD,

который связывается с одной из перечисленных выше мишеней, охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются по меньшей мере с 1, 2, 3, 4, 5, 6 из перечисленных выше мишеней. Предполагается, что перечисленные выше мишени антител и MRD и описанные в других разделах настоящего документа являются иллюстративными и неограничивающими.

Согласно еще одному варианту реализации указанная мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой

TNFSF1A (ФНО/ФНО-альфа), TNFRSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFRSF 1B (TNFR2), TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), TNFRSF 7 (CD27), TNFSF13B (BLYS), TNFSF13 (APRIL), TNFRSF13B (TACI), TNFRSF13C (BAFFR), TNFRSF17 (BCMA), TNFSF15 (TL1A), TNFRSF25 (DR3), TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF12 (TWEAKR), TNFSF4 (лиганд OX40), TNFRSF 4 (OX40), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFRSF5 (CD40), ИЛ-1, ИЛ-1-бета, рИЛ-1, рИЛ-2, ИЛ-4-Ra, ИЛ-5, рИЛ-5, ИЛ-6, рИЛ-6, ИЛ-9, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-14, ИЛ-15, рИЛ-15, ИЛ-17f, рИЛ-17, рИЛ-17b, рИЛ-17C, ИЛ-20, ИЛ-21, α -рецептор ИЛ-22 (рИЛ-22-A), ИЛ-23, рИЛ-23, ИЛ-31,

тиусный стромальный лимфопоэтин (TSLP), рецептор TSLP (TSLPR), интерферон альфа, интерферон гамма,

B7RP-1, cKit, ГМКСФ, рГМКСФ,
 CTLA-4, CD2, CD3, CD4, CD11a, CD18, CD20, CD22, CD26L, CD30, TNFRSF5
 (CD40), CD80, CD86, CXCR3, CXCR4, CCR2, CCR4, CCR5, CCR8, CCL2, CXCL10,
 ПФР, PD1, B7-DC (PDL2), B7-H1 (PDL1),

интегрин альфа-4, интегрин A4B7, C5, RhD, IgE или Rh. MRD, который связывается с одной из перечисленных выше мишеней, охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством перечисленных выше мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество доменов MRD, которые связываются по меньшей мере с 1, 2, 3, 4, 5, 6 из перечисленных выше мишеней. Согласно конкретным вариантам реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание мишени с: SGN-70 к CD70 (Seattle Genetics), SGN-75 к CD70 (Seattle Genetics), белимумабом к BLYS (например, BENLYSTA®, Human Genome Sciences/GlaxoSmithKline), атацисептом к BLYS/APRIL (Merck/Serono), TWEAK (например, Biogen mAb), антителами к TL1A от CoGenesys/Teva (например, hum11D8, hum25B9 и hum1B4 (опубликованная заявка на патент США № 2009/0280116), моноклональным антителом к OX40, моноклональным антителом человека к OX40L (Genentech), рилонацептом к ловушке ИЛ-1 (например, ARCALYST®, Regeneron), катумаксوماбом к ИЛ-1-бета (например, REMOVAB®, Fresenius Biotech GmbH), Хома052 к ИЛ-1-бета (Lilly), канакинумабом к ИЛ-1-бета (например, ILARIS® (Novartis) и ACZ885 (Novartis)), AMG108 к pИЛ-1 (Amgen), даклизумабом к pИЛ-2a (например, ZENAPAX®, Hoffman-La Roche), базиликсимабом к pИЛ-2a (например, SIMULECT®, Novartis), AMG-317 к ИЛ-4a (Amgen), пасколизумабом к ИЛ-4 (PDL), меполизумабом к ИЛ-5 (например, BOSATRIA®, GlaxoSmithKline), реслизумабом к ИЛ-5 (например, SCH55700, Ception Therapeutics), бенрализумабом к pИЛ-5 (например, MEDI-563 MedImmune), BIW-8405, pИЛ-5 (BioWa), этанерцептом к pИФР-2-fc (например, ENBREL®, Amgen), силтуксимабом к ИЛ-6 (например, CNTO328, Centocor), CNTO136 к ИЛ-6 (Centocor), CDP-6038 к ИЛ-6 (UCB), AMG-220 к ИЛ-6 (Amgen), REGN-88 к pИЛ-6 (Regeneron), тоцилизумабом к pИЛ-6 (например, АСТЕМРА™/ ROАСТЕМРА™, Chugai/Roche), MEDI-528 к IL9 (MedImmune), бриакинумабом к ИЛ-12/13 (например, ABT-874, Abbott), устекинумабом к ИЛ-12, ИЛ-23 (например, STELARA® и CNTO 1275, Centocor), TNX-65 к ИЛ-13 (Танох), лебрикизумабом к ИЛ-13 (Genentech), тралокинумабом к ИЛ-13 (например, CAT354, например, Cambridge Antibody Technology), AMG714 к ИЛ-15 (Amgen), CRB-15 к pИЛ-15 (Hoffman La-Roche), AMG827 к pИЛ-17 (Amgen), антителом к pИЛ-17C от Zymogenetics/Merck Serono, антителом к ИЛ-20 от Zymogenetics, антителом к ИЛ-20 от Novo Nordisk, антителом к ИЛ-21 от Novo Nordisk (например, NCT01038674), антителом Zymogenetics к ИЛ-21 (Zymogenetics), антителом к pИЛ-22-A от Zymogenetics, антителом к ИЛ-31 к Zymogenetics, AMG157 к TSLP (Amgen), MEDI-545 к интерферону альфа (MedImmune), MEDI-546 к рецептору интерферона альфа (MedImmune), AMG811 к интерферону гамма (Amgen), INNO202 к интерферону гамма (Innogenetics/Advanced Biotherapy), HuZAF к интерферону-гамма (PDL), AMG557 к B7RP1 (Amgen), AMG191 к cKit (Amgen), MOR103 к ГМКСФ (MorphoSys), маврилиумабом к рГМКСФ (например, SAM-3001, MedImmune), тремелиумабом к CTLA4 (например, CP-675,206, Pfizer), иплиумабом к CTLA4 (например, MDX-010, BMS/Medarex), алефасептом к CD2 (например, AMEVIVE®, Astellas), сиплизумабом к CD2 (например, MEDI-507, MedImmune), отеликсизумабом к CD3 (например, TRX4, Tolergx/GlaxoSmithKline), теплизумабом к CD3 (например, MGA031, MacroGenics/Eli Lilly), визилизумабом к CD3 (например, NUVION®, PDL), муромонабом-CD3 к CD3 (Ortho), ибализумабом (например, TMB-355 и TNX-355, TaiMed Biologics), занулимумабом к CD4 (например, HUMAX-CD4®, от Genmab), цеделизумабом к CD4 (Euroasian Chemicals), келиксимабом к CD4, приликсимабом к CD4 (например, cMT412, Centocor), BT-061 к CD4 (BioTest AG), эфализумабом к CD11a (например, RAPTIVA®/XANELIM™, Genentech/Roche/Merck-Serono), MLN01 к CD18 (Millennium Pharmaceuticals), эпратузумабом к CD22 (например, антителом Amgen) и hLL2; (Immunomedics/UCB)), аселизумабом к CD26L, иратумумабом к CD30 (например, SGN30 (Seattle Genetics) и MDX-060 (Medarex), SGN40 к CD40 (Seattle Genetics), AN-TOVA® к лиганду CD40 (Biogen Idec), абатацептом к CD80 и CD86 (например, ORENCIA®, Bristol-Myers Squibb), CT-011 к PD1 (Cure Tech), GITR (например, TRX518, (Tolerx), AT010 к CXCR3 (Affitech), MLN1202 к CCR2 (Millennium Pharmaceuticals), AMG-761 к CCR4 (Amgen), HGS004 к CCR5 (Human Genome Sciences), PRO 140 (Progenies), MDX-1338 к CXCR4 (Medarex), CNTO-888 к CCL2 (Centocor), ABN912 к CCL2 (Novartis), MDX-1100 к CXCL10 (Medarex), TB-403 к ПФР (BioInvent), натализумабом к субъединице интегрин альфа-4 (например, TYSABRI®, Biogen Idec/Elan), ведолизумабом к интегрину A4B7 (например, MLN2, Millennium Pharmaceuticals/Takeda), экулизумабом к фактору комплемента C5 (например, SOLIRIS®, Alexion), пекселизумабом к фактору комплемента C5 (Alexion), омализумабом к IgE (например, XOLAIR®, Genentech/Roche/Novartis), тализумабом (например, TNX-901, Tanox), торализумабом (IDEC 131, IDEC), бертилиумабом к зотаксину (например, iCo-008, iCos Therapeutics Inc.), озролимумабом к RhD (например, Sym001, Symphogen A/S), аторолимумабом или моролимумабом (Rh-

фактор). MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени по меньшей мере с 1, 2, 3, 4, 5 или 6 из указанных выше антител. Согласно конкретным вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела представляет собой: SGN-70 к CD70 (Seattle Genetics), SGN-75 к CD70 (Seattle Genetics), белимумаб к BLYS (например, BENLYSTA®, Human Genome Sciences/GlaxoSmithKline), ВІІВ023 к TWEAK (Biogen Idec), антитела к TL1A от CoGenesys/Teva (например, 11D8, 25B9 и 1B4 (опубликованная заявка на патент США № 2009/0280116)), моноклональное антитело к OX40, моноклональное антитело человека к OX40L (Genentech), катумаксомаб к ИЛ-1-бета (например, REMOVAB®, Fresenius Biotech GmbH), канакинумаб к ИЛ-1-бета (например, ILARIS® (Novartis) и ACZ885 (Novartis)), AMG108 к pИЛ-1 (Amgen), даклизумаб к pИЛ-2a (например, ZENAPAX®, Hoffman-La Roche), базиликсимаб к pИЛ-2a (например, SIMULECT®, Novartis), AMG-317 к ИЛ-4a (Amgen), пасколизумаб к ИЛ-4 (PDL), меполизумаб к ИЛ-5 (например, BOSATRIA®, GlaxoSmithKline), реслизумаб к ИЛ-5 (например, SCH55700, Seption Therapeutics), бенрализумаб к pИЛ-5 (например, MEDI-563, MedImmune), BIW-8405, pИЛ-5 (BioWa), силтуксимаб к ИЛ-6 (например, CNTO328, Centocor), CNTO-136 к ИЛ-6 (Centocor), CDP-6038 к ИЛ-6 (UCB), AMG-220 к ИЛ-6 (Amgen), REGN-88 к pИЛ-6 (Regeneron), тоцилизумаб к pИЛ-6 (например, АСТЕМРА™/ROАСТЕМРА™, Chugai/Roche), MEDI-528 к IL9 (MedImmune), бриакинумаб к ИЛ-12/13 (например, АВТ-874, Abbott), устекинумаб к ИЛ-12, ИЛ-23 (например, CNTO 1275, Centocor), лебрикизумаб к ИЛ-13 (Genentech), TNX-650 к ИЛ-13 (Tanox), CAT354 к ИЛ-13 (Cambridge Antibody Technology), AMG714 к ИЛ-15 (Amgen), CRB-15 к pИЛ-15 (Hoffman La-Roche), AMG827 к pИЛ-17 (Amgen), антитело к pИЛ-17C от Zymogenetics/Merck Serono, антитело к ИЛ-20 от Zymogenetics, антитело к ИЛ-20 от Novo Nordisk, ИЛ-21 антитело от Novo Nordisk, ИЛ-21 антитело Zymogenetics (Zymogenetics), антитело к pИЛ-22-A от Zymogenetics, антитело к ИЛ-31 от Zymogenetics, AMG157 к TSLP (Amgen), MEDI-545 к интерферону альфа (MedImmune), MEDI-546 к рецептору интерферона альфа (MedImmune), AMG811 к интерферону гамма (Amgen), INNO202 к интерферону гамма (Innogenetics/Advanced Biotherapy), HuZAF к интерферону-гамма (PDL), AMG557 к B7RP1 (Amgen), AMG191 к cKit (Amgen), MORI03 к ГМКСФ (MorphoSys), CAM-3001 к pГМКСФ (MedImmune), тремелиумаб к CTLA4 (например, CP-675206, Pfizer), иплиумаб к CTLA4 (например, MDX-010, BMS/Medarex), сиплизумаб к CD2 (например, MEDI-507, MedImmune), отеликсизумаб к CD3 (например, TRX4, Tolerx/GlaxoSmithKline), муромонаб-CD3 к CD3 (Ortho), теплизумаб к CD3 (например, MGA031, MacroGenics/Eli Lilly), визилизумаб к CD3 (например, NUVION®, PDL), занулиумаб к CD4 (например, HUMAX-CD4®, от Genmab), цеделизумаб к CD4 (Euroasian Chemicals), келиксимаб к CD4, приликсимаб к CD4 (например, cMT412, Centocor), BT-061 к CD4 (BioTest AG), ибализумаб (например, TMB-355 и TNX-355, TaiMed Biologics), эфализумаб к CD11a. (например, RAPTIVA®/XANELIM™, Genentech/Roche/Merck-Serono), MLN01 к CD18 (Millennium Pharmaceuticals), эпатрузумаб к CD22 (например, антитело Amgen) и hLL2 (Immunomedics/UCB)), аселизумаб к CD26L, иратумумаб к CD30 (например, SGN30 (Seattle Genetics) и MDX-060 (Medarex), SGN40 к CD40 (Seattle Genetics), ANTOVA® к лиганду CD40 (Biogen Idec), CT-011 к PD1 (Cure Tech), AT010 к CXCR3 (Affitech), MLN3897 к CCR1 (Millennium Pharmaceuticals), MLN1202 к CCR2 (Millennium Pharmaceuticals), AMG-761 к CCR4 (Amgen), HGS004 к CCR5 (Human Genome Sciences), PRO 140 (Progenies), MDX-1338 к CXCR4 (Medarex), CNTO-888 к CCL2 (Centocor), ABN912 к CCL2 (Novartis), MDX-1100 к CXCL10 (Medarex), TB-403 к ПФР (Bio-Invent), натализумаб к субъединице интегрин альфа-4 (например, TYSABRI®, Biogen Idec/Elan), ведолизумаб к интегрину A4B7 (например, MLN02, Millennium Pharmaceuticals/Takeda), экулизумаб к фактору комплемента C5 (например, SOLIRIS®, Alexion pharmaceuticals), омализумаб к IgE (например, ХО-LAIR®, Genentech/Roche/Novartis), тализумаб (например, TNX-901, Tanox), торализумаб (IDEC 131, IDEC), бертилиумаб к эотаксину (например, iCo-008, iCo Therapeutics Inc.), озролимумаб к RhD (например, Sym001, Symphogen A/S), аторолимумаб или моролимумаб (Rh фактор).

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мишень антитела MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание мишени с антителом, выбранным из: окселумаба (например, RG4930; Genmab), AMG139 (Amgen), AMG181 (Amgen), CNTO 148 к ФНО (Medarex), антителом против ФНО, описанным в патенте США № 6258562 (BASF), Humicade® к ФНО (Celltech), HuM29\CD3 к fс-рецептору (PDL), Mik-beta-1 к pИЛ-2-бета (CD122) (Hoffman LaRoche), REGN668 к pИЛ-4 (Regeneron), сарилумаба к pИЛ-6 (например, REGN88, Regeneron), HuMax-Inflam к ИЛ-8 (например, HuMax-Inflam™/MDX-018; Genmab и Medarex), антитела против ИЛ-12 и/или против ИЛ-12p40, раскрытого в патенте США № 6914128 (Abbott), HuMax-IL-15 к ИЛ-15 (Medarex и Genmab), ABX-IL8 к ИЛ-8 (Abgenix), антитела против ИЛ-18 раскрытого в опубл. заявке на патент США № 2005/0147610 (Abbott), hCBE-11 к рецептору лимфотоксина-бета (LTBR) (Biogen), HuMax-TAC к ИЛ-2Rα (CD25) (Genmab, см., например, опубликованную международную заявку №WO2004045512, MLN01 к интегрину бета-2 (Хома), D3H44 к

активирующему фактору транскрипции (ATF) (Genentech), MT203 к ГМКСФ (например, намилиумаб, Micromet и Takeda), IFX1/CaCP29 (InflaRx GmbH), CAT-213 к эотаксину-1 (Cambridge Antibody Technologies), MDX-018 к ИЛ-8 (например, HuMax-Inflam™; Medarex), REGN846 к pИЛ-4 (Regeneron, см., например, опубл. заявку на патент США № 20100291107), REGN728 (Regeneron), RGN846 (Regeneron), T2-18C3 к ИЛ-1A (MABp1; XBiotech), RA-18C3 к ИЛ-1A (XBiotech) и CV-18C3 к ИЛ-1A (XBiotech). MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащие антитела, содержащие по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, или 6 из указанных выше антител.

Согласно дополнительным вариантам реализации одно из описанных выше антител представляет собой антитело из MRD-содержащего антитела.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает CTLA4. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой тремелиумаб (например, CP-675206, Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и тремелиумаб. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание тремелиумаба с CTLA4. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой ипилиумаб (например, MDX-010, Bristol-Myers Squibb/Medarex). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и ипилиумаб. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание ипилиумаба с CTLA4. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание CTLA4 с тремелиумабом или ипилиумабом, также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает TNFSF12 (TWEAK). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой антитело к TWEAK от Biogen, доведенное до I фазы клинических испытаний. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело к TWEAK от Biogen. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание антитела к TWEAK от Biogen с TWEAK. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание TWEAK с антителом к TWEAK от Biogen, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает pИЛ-2a (CD25). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой даклизумаб (например, ZENAPAX®). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и даклизумаб. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание даклизумаба с pИЛ-2a (CD25). Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание pИЛ-2a (CD25) с даклизумабом, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает CD40 (TNFRSF5). Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой CP-870893 к CD40 (Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и CP-870893. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание CP-870893 с CD40. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание CD40 с CP-870893, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает интегрин альфа-4. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой натализумаб (например, TYSABRI®; Biogen Idec/Elan). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и натализумаб. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание натализумаба с интегрином альфа-4. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание интегрин альфа-4 с натализумабом, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает ИЛ-22. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой PF-5212367 (ILV-094) (Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело свя-

зывается с тем же эпитопом, что и PF-5212367. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PF-5212367 с ИЛ-22. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание ИЛ-22 с PF-5212367, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает MAdCAM. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой PF-547659 (Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и PF-547659. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание PF-547659 с MAdCAM. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание MAdCAM с PF-547659, также охвачены настоящим изобретением. Согласно одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе специфически связывает ФНО. Согласно конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой адалимумаб (например, Хумира®/TRUDEXA®, Abbott). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и адалимумаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание адалимумаба с ФНО. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой ATN-103 (Pfizer). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и ATN-103. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание ATN-103 с ФНО. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой инфликсимаб. Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и инфликсимаб. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание инфликсимаба с ФНО. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело выбрано из: цертолизумаба (например, CIMZIA®, UCB), голимумаба (например, Симпони™, Centocor) и AME-527 (Applied Molecular Evolution). Согласно одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и цертолизумаб, голимумаб или AME-527. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует связывание цертолизумаба, голимумаба или AME-527 с ФНО. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2, 3, 4 или 5 указанными выше антителами, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно некоторым вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе содержит области CDR антитела адалимумаб против ФНО. Последовательности CDR, VH и VL адалимумаба приведены в табл. 3.

Таблица 3

CDR	Последовательность
VL-CDR1	RASQGIRNYLA (SEQ ID NO:80)
VL-CDR2	AATLQS (SEQ ID NO:81)
VL-CDR3	QRYNRAPYT (SEQ ID NO:82)
VH-CDR1	DYAMH (SEQ ID NO:83)
VH-CDR2	AITWNSGHIDYADSVEG (SEQ ID NO:84)
VH-CDR3	VSYLSTASSLDY (SEQ ID NO:85)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKL LIYAATLQSGVPSRFSGSGTDFLTITSLQPEDVATYYCQRYNR APYTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:86)
VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKG LEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGLTVSS (SEQ ID NO:87)

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФНО (т.е. ФНО-альфа) и дополнительно связывает мишень, выбранную из:

Te38, ИЛ-12,

ИЛ-12p40, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-1-бета, ИЛ-23, MIF, PGE2, PGE4,

ФРЭС, TNFSF11 (RANKL), TNFSF13B (BLYS), GP130, CD22 и CTLA-4.

еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФНО-альфа, ИЛ-6 и TNFSF13B (BLYS). Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает

ФНО-альфа и TNFSF12 (TWEAK). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ФНО и TNFSF15 (TL1A). Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФНО и дополнительно связывает мишень, выбранную из HPF, SOST (склеростина), липопротеина (а) (LPA), ИЛ-17А, DKK, $\alpha\text{v}\beta 3$, ИЛ-23p19, ИЛ-2, pИЛ-2А (CD25), ИЛ-6, pИЛ-6, ИЛ-12p40, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-21, ИЛ-22; и CD20 связывает ФНО. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФНО-альфа и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФНО-альфа. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой адалимумаб, инфликсимаб, цертолизумаб, голимумаб, CNTO 148, AME-527 или ATN-103.

Согласно другим вариантам реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой ИЛ-6. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело MRD-содержащего антитела представляет собой силтуксимаб (CNTO328, Centocor), CNTO-136 (Centocor), CDP-6038 (UCB) или AMG-220 (Amgen). Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела конкурирует с силтуксимабом (CNTO328, Centocor), CNTO-136 (Centocor), CDP-6038 (UCB) или AMG-220 (Amgen) за связывание с ИЛ-6. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-6. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-6 и мишень, выбранную из: ИЛ-1, ИЛ-1-бета, pИЛ-1a, ИЛ-5, CD8, TNFRSF5 (CD40), PDL1, pИЛ-6, ИЛ-17А, ФНО, ФРЭС, TNFSF11 (RANKL) и PGE2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ИЛ-6 и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ИЛ-6. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой силтуксимаб, CNTO136, CDP-6038 или AMG-220. Согласно другим вариантам реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой pИЛ-6. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело MRD-содержащего антитела представляет собой REGN-88 (Regeneron) или тоцилизумаб (ACTEMRATM/ROACTEMRATM, Chugai/Roche). Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела конкурирует с силтуксимабом, REGN-88 (Regeneron) или тоцилизумабом (ACTEMRATM/ROACTEMRATM, Chugai/Roche) за связывание с pИЛ-6. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1 или обоими указанными выше антителами, также охвачены настоящим изобретением. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает pИЛ-6. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает pИЛ-6 и мишень, выбранную из: CD8, TNFRSF5 (CD40), PDL1, ИЛ-6, ИЛ-1A, ФНО, ФРЭС, TNFSF11 (RANKL) и PGE2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают pИЛ-6 и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает pИЛ-6. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой REGN-88 или тоцилизумаб.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает TNFSF15 (TL1A). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает TL1A и мишень, выбранную из: ФНО, ИФН-альфа, ИФН-гамма, ИЛ-1, ИЛ-1-бета, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23 и ИЛ-32. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают TL1A и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Указанные композиции находят применение в лечении заболеваний и расстройств, включающих воспалительное заболевание кишечника и аутоиммунные заболевания, такие как ревматоидный артрит. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает TL1a.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает интерферон альфа. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает интерферон альфа и TNFSF13B (BLYS). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает интерферон альфа, TNFSF13B (BLYS) и нейтрофильную внеклеточную ловушку (NET). Указанные композиции находят применение в лечении заболеваний и рас-

стройств, включающих аутоиммунные заболевания, такие как ревматоидный артрит и системная красная волчанка. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает интерферон альфа.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции, предложенные в настоящем изобретении, также находят применение в лечении неврологических заболеваний или расстройств, в том числе нейро-дегенеративных заболеваний, боли и неврологического повреждения или травмы. Согласно конкретным вариантам реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой: амилоид бета (А-бета), бета-амилоид, фактор комплемента D, протеолипидный белок (PLP), ROBO4, ROBO, глиальный нейротрофический фактор (GDNF), HPФ, белок, содержащий богатый лейцином повтор и Ig-подобный домен (LINGO) или миостатин. Согласно конкретным вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой гантенеромаб (например, R1450, Hoffman La-Roche), бапинеизумаб к бета-амилоиду 9 (Eli Lilly и Pfizer), соланезумаб к бета-амилоиду 9 (Eli Lilly), танезумаб к HPФ (например, RN624, Pfizer), ВПВ033 к LINGO (Biogen Idec), PF-3446879 к миостатину (Pfizer) или стимулумаб к миостатину (Wyeth). Согласно конкретному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой фулранумаб (например, AMG-403; Amgen/Millennium). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и гантенеромаб, бапинеизумаб, соланезумаб, танезумаб, антитело к LINGO от Biogen или стимулумаб. Согласно дополнительному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и фулранумаб. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание мишени гантенеромабом, бапинеизумабом, соланезумабом, танезумабом, ВПВ033 или стимулумабом. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание HPФ фулранумабом. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой бета-амилоид. Согласно конкретному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой RN1219 (PF-4360365; Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и RN1219. Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание бета-амилоида RN1219. MRD, конкурирующий за связывание бета-амилоида с RN1219, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание бета-амилоида с RN1219, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой HPФ. Согласно конкретному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой танезумаб (например, RN624, Pfizer). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и танезумаб. Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание HPФ танезумабом. MRD, конкурирующий за связывание HPФ с танезумабом, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание HPФ с танезумабом, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает HPФ и мишень, выбранную из:

MTX, NKG2D, RON, pИЛ-6, ErbB3, TNFRSF21
(DR6), CD3, pИФР, DLL4, P1GF, CD20, pЭФР, HER2, CD19, CD22, TNFRSF5 (CD40),
CD80, cMET, NRP1, ФНО, LINGO, ФРГ, ИФР-1, ИФР-1,2, ИФР-2, HPФ, Те38,
NogoA, RGM A, MAG, OMGr, NgR, TNFSF12 (TWEAK), PGE2, ИЛ-1-бета,

семафорина 3А и семафорина 4. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают HPФ и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает HPФ. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой танезумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание HPФ с танезумабом. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой MEDI-578. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конку-

рирует за связывание НРФ с MEDI-578.

Согласно дополнительному варианту реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой LINGO (например, LINGO1). Согласно конкретному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой ВІІВ033 (Biogen Idec). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и ВІІВ033. Согласно дополнительному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание LINGO антителом ВІІВ033. MRD, конкурирующий за связывание LINGO с ВІІВ033, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание LINGO с ВІІВ033, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает LINGO и мишень, выбранную из:

MTX, NKG2D, RON, pИЛ-6, ErbB3, TNFRSF21
(DR6), CD3, pИФР, DLL4, PIGF, CD20, pЭФР, HER2, CD19, CD22, TNFRSF5 (CD40),
CD80, cMET, NRP1, ФНО, TNFSF12 (TWEAK), ФРГ, ИФР-1, ИФР-1,2, ИФР-2, НРФ,
Te38, NogoA, RGM A, MAG, OMGr, NgR, НРФ, PGE2, ИЛ-1-бета,

семафорина 3А и семафорина 4. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают LINGO и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает LINGO. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой ВІІВ033.

Согласно конкретному варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой TNFSF12 (TWEAK). Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе связывает TNFSF12 (TWEAK) и мишень, выбранную из:

MTX, NKG2D, RON, pИЛ-6, ErbB3, TNFRSF21 (DR6), CD3,
pИФР, DLL4, PIGF, CD20, pЭФР, HER2, CD19, CD22, TNFRSF5 (CD40), CD80,
cMET, NRP1, ФНО, LINGO, ФРГ, ИФР-1, ИФР-1,2, ИФР-2, НРФ, Te38, NogoA, RGM
A, MAG, OMGr, NgR, НРФ, PGE2, ИЛ-1-бета,

семафорина 3А и семафорина 4.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают TNFSF12 (TWEAK) и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает TNFSF12 (TWEAK). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой ВІІВ023.

Согласно еще одному варианту реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой: окисленный ЛПНП, gpІІВ, gpІІІа, PCSK9, фактор VIII, интегрин $\alpha 2\beta 3$, АОСЗ или мезотелин. Согласно конкретным вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой BI-204 окисленный ЛПНП (BioInvent), абциксимаб к gpІІВ, gpІІІа (например, REOPRO, Eli Lilly), AMG-145 к PCSK9 (Amgen), TB-402 к фактору VIII (BioInvent), вапаликсимаб или тадоцизумаб к интегрину $\alpha 2\beta 3$ (Yamamoto Pharma). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и BI-204, абциксимаб, AMG-145, TB-402 или тадоцизумаб. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание BI-204, абциксимаба, AMG-145, TB-402, вапаликсимаба или тадоцизумаба. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела связано с ростом и/или метаболизмом костей. Согласно определенным вариантам реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой TNFSF11 (RANKL). Согласно другим вариантам реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой: DKK1, остеопонтин, катепсин К, TNFRSF19L (RELТ), TNFRSF19 (TROY) или склеростин (CDP-7851 UCB Celltech). Согласно другому варианту реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой TNFSF11 (RANKL). Согласно конкретному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой деносумаб (например, AMG-162, Amgen). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и деносумаб. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем

антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание TNFSF11 (RANKL) деносумабом. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное антитело представляет собой AMG617 или AMG785 (например, CDP7851, Amgen). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело специфически связывается с тем же эпитопом, что и AMG617 или AMG785. Согласно еще одному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой антитело, которое конкурентно ингибирует связывание склеростина AMG617 или AMG785. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает TNFSF11 (RANKL). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает TNFSF11 и мишень, выбранную из: склеростина (SOST), эндотелина-1, DKK1, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-11, ИЛ-17A, МКСФ, ИФР-1, ИФР-2, ИФР-1,2 рИФР-1, ФНО, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8a, ФРФ-8b, ФРФ-18, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, ТФР-бета, рецептора-2 ТФР-бета, BMP2, BMP4, BMP5, BMP9, BMP10, BMPR-1A, ТцФР, рецептора ТцФР-альфа, β -рецептора тромбоцитарного фактора роста (рТцФР-В), РТН, связанный с РТН белок (РТНр) и PGE2. Согласно конкретному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает TNFSF11 и DKK1. Согласно дополнительному варианту реализации антитело из MRD-содержащего антитела связывает DKK1. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают TNFSF11 и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает TNFSF11. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой деносумаб, AMG617 или AMG785. Согласно дополнительным вариантам реализации мишень антитела MRD-содержащего антитела представляет собой бактериальный антиген, вирусный антиген, антиген микоплазмы, прионный антиген или антиген паразита (например, паразита, инфицирующего млекопитающее).

Согласно другим вариантам реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой вирусный антиген. Согласно одному варианту реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой сибирскую язву, гепатит В, бешенство, вирус Нипах, вирус Западного Нила, вирус менингита или ЦМВ. Согласно другим вариантам реализации антитело MRD-содержащего антитела конкурирует со связыванием антигена с ABTHRAX® (Human Genome Sciences), эксбивирумабом, форовирумабом, либивирумабом, рафивирумабом, регавирумабом, севирумабом (например, MSL-109, Protovir), тивирумабом, раксibaкумабом, вирусом Нипах M102.4 или MGAWN1® (MacroGenics) за связывание мишени. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно другим вариантам реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой респираторный синцитиальный вирус (PCV). Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела представляет собой мотавизумаб (например, NUMAX®, MEDI-577; MedImmune) или паливизумаб к гибриднему f-белку PCV (например, SYNAGIS®, MedImmune). Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела конкурирует с мотавизумабом или паливизумабом к гибриднему f-белку PCV за связывание мишени. Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела представляет собой фелвизумаб. Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела конкурирует с фелвизумабом за связывание мишени. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением. Согласно другим вариантам реализации мишень антитела из MRD-содержащего антитела представляет собой бактериальный или грибной антиген. Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание антигена с небакумабом, эдобакумабом (например, E5), тефибакумабом (Inhibitex), панобакумабом (например,

КВРА101, Kenta), пагибаксимабом (например, BSYX-A110, Biosynexus), уртоксазумабом или эфунгумабом (например, MYCOGRAB®, Novartis). Согласно другим вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела представляет собой небакумаб, эдобакомаб, тефибазумаб (Inhibitex), панобакумаб, пагибаксимаб, уртоксазумаб или эфунгумаб. MRD, конкурирующий за связывание мишени с одним из указанных выше антител, также охвачен настоящим изобретением. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество MRD, которые конкурируют за связывание мишени с 1, 2 или большим количеством из указанных выше антител, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно еще одному конкретному варианту реализации антитело в MRD-содержащем антителе представляет собой каталитическое антитело 38C2. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело связывается с тем же эпитопом, что и 38C2. Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело конкурентно ингибирует 38C2.

Другие антитела, представляющие интерес, включают связывающие A33 антитела. Антиген A33 человека представляет собой трансмембранный гликопротеин суперсемейства Ig. Функция антигена A33 человека в нормальной и злокачественной ткани толстой кишки до настоящего времени неизвестна. Однако некоторые свойства антигена A33 предполагают, что он представляет собой перспективную мишень для иммунотерапии рака толстой кишки. Указанные свойства включают:

- (i) строго ограниченный паттерн экспрессии антигена A33,
- (ii) экспрессию значительных количеств антигена A33 на раковых клетках толстой кишки,
- (iii) отсутствие секретируемого антигена или шеддинга антигена A33,
- (iv) тот факт, что при связывании антитела к A33 с антигеном A33, антитело к A33 интернализуется и секвестрируется в везикулах, и
- (v) нацеливание антитела A33 на экспрессирующий антиген A33 рак толстой кишки в предварительных клинических исследованиях.

Гибрид MRD, направленный на A33, с каталитическим или не-каталитическим антителом, повышает терапевтическую эффективность нацеленных на A33 антител.

Согласно некоторым вариантам реализации антитело в MRD-содержащем антителе связывается с целевым белком человека. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD связывается с белком человека, и с его ортологом у мыши, крысы, кролика или хомяка.

Антитела в мультивалентных и мультиспецифических композициях (например, MRD-содержащие антитела) способны связывать соответствующие им мишени, если домены MRD соединены с антителом. Согласно определенным вариантам реализации указанное антитело связывает мишень независимым образом. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело представляет собой агонист мишени. Согласно другим вариантам реализации указанное антитело представляет собой антагонист мишени. Согласно определенным вариантам реализации указанное антитело может применяться для локализации MRD-содержащего антитела в области, где расположена мишень антитела.

Предполагается, что антитела, используемые в настоящем изобретении, могут быть получены любым способом, известным в данной области техники. Например, молекулы антител и мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) могут быть "получены рекомбинантным способом", т.е. получены с применением технологии рекомбинантной ДНК. Моноклональные антитела, которые могут применяться в качестве антитела-компонента указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) могут быть получены с применением гибридных способов, такие как описанные у Kohler and Milstein, Nature 256:495 (1975). При применении гибридного способа мышь, хомяк или другое подходящее животное-хозяина иммунизируют согласно описанию выше, чтобы вызвать продуцирование лимфоцитами антител, специфически связывающихся с иммунизирующим антигеном. Лимфоциты могут также быть иммунизированы *in vitro*. После иммунизации лимфоциты выделяют и соединяют с подходящей миеломной клеточной линией с применением, например, полиэтиленгликоля, с получением клеток гибридомы, которые затем могут быть отделены от неслитых лимфоцитов и клеток миеломы. Гибридомы, продуцирующие моноклональные специфические антитела, направленные против выбранного антигена согласно оценке с помощью иммунопреципитации, иммуноблоттинга или с применением анализа связывания *in vitro* (например, радиоиммунологического анализа (RIA); иммуноферментного твердофазного анализа (ELISA)), могут быть затем размножены либо *in vitro*, например, с применением известных способов (см., например, Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, 1986) или *in vivo*, например, в асцитных опухолях у животного. Затем моноклональные антитела могут быть очищены из культуральной среды или асцитной жидкости согласно приведенному выше описанию для поликлональных антител.

Как вариант, моноклональные антитела могут также быть получены с применением методов рекомбинантной ДНК, например, согласно описанию в патенте США №4816567. Например, согласно одному подходу полинуклеотиды, кодирующие моноклональное антитело, выделяют из зрелых В-клеток или клетки гибридомы, например, с помощью ОТ-ПЦР с использованием олигонуклеотидных праймеров, специфически амплифицирующих гены, кодирующие тяжелые и легкие цепи указанного антитела, и определяют их последовательность с применением стандартных процедур. Выделенные полинуклеотиды,

кодирующие тяжелые и легкие цепи, затем клонируют в подходящие экспрессионные векторы, при трансфекции которыми клеток-хозяев, таких как клетки *E. coli*, клеток обезьян COS, клеток яичника китайского хомячка (CHO) или клеток миеломы, не продуцирующих в иных условиях иммуноглобулиновый белок, указанные клетки-хозяева продуцируют моноклональные антитела. При других подходах рекомбинантные моноклональные антитела или фрагменты антител, обладающие требуемой иммунореактивностью, могут быть выделены из библиотек с фаговым дисплеем, экспрессирующих области CDR нужного типа, с применением техники, известной в данной области техники (McCafferty et al., *Nature* 348:552-554 (1990); Clackson et al., *Nature* 352:624-628 (1991); и Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1991)). Полинуклеотид(ы), кодирующий(ие) моноклональное антитело, может(гут) быть дополнительно модифицированы различными способами с применением технологии рекомбинантной ДНК для получения альтернативных вариантов антител. Например, полинуклеотидные последовательности, кодирующие один или большее количество доменов MRD и в некоторых случаях линкеры, могут быть функционально связаны, например, с 5'- или 3'-концом последовательности, кодирующей последовательности моноклонального антитела. Согласно некоторым вариантам реализации константные домены легких и тяжелых цепей, например, моноклонального антитела мыши, могут быть заменены:

(1) на соответствующие области, например, антитела человека для получения гибридного антитела, или

(2) на неиммуноглобулиновый полипептид для получения гибридного антитела.

Техники направленного мутагенеза и мутагенеза высокой плотности вариабельной области известны в данной области техники и могут применяться для оптимизации специфичности, аффинности и т.п. моноклонального антитела.

Согласно определенным вариантам реализации антитело из MRD-содержащего антитела представляет собой антитело человека. Например, антитела человека могут быть прямо получены с применением различных техник, известных в данной области техники. Могут быть получены иммортализованные В-лимфоциты человека, иммунизированные *in vitro* или выделенные из иммунизированного индивидуума, продуцирующие антитело, направленное против целевого антигена (См., например, Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boemer et al., *J. Immunol.* 147 (1):86-95 (1991); и патенты США № 5750373 и 6787637). Согласно одному варианту реализации указанное антитело человека может быть получено "методом минилокусов", при котором locus экзогенного иммуноглобулина имитируют путем включения индивидуальных генов локуса иммуноглобулина (см. например, патент США № 5545807). Способы получения антитела человека из фаговой библиотеки и, необязательно, оптимизации сродства к связыванию известны в данной области техники и описаны, например, у Vaughan et al., *Nat. Biotech.* 14:309-314 (1996); Sheets et al., *Proc. Nat'l. Acad. Sci.* 95:6157-6162 (1998); Hoogenboom et al., *Nat. Biotechnology* 23:1105-1116 (2005); Hoogenboom et al., *J. Mol. Biol.* 227:381 (1991); Persic et al., *Gene* 187:9-18 (1997); Jostock et al., *J. Immunol. Methods* 289:65-80 (2004); Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991); et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:7978-7982 (1991); et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813 (1994); Yang et al., *J. Mol. Biol.* 254:392-403 (1995); и Barbas et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:4457-4461 (1992). Техники получения и применения фаговых библиотек антител также описаны в патентах США № 5545807, 5969108, 6172197, 5885793, 6521404, 6544731, 6555313, 6582915, 6593081, 6300064, 6653068, 6706484 и 7264963; и у Rothe et al., *J. Mol. Bio.* 130:448-54 (2007) (каждый из указанных источников полностью включен в настоящий документ посредством ссылки). Стратегии аффинного созревания и стратегии шаффлинга цепей (Marks et al., *Bio/Technology* 10:779-783 10:779-783 (1992) (источник полностью включен в настоящий документ посредством ссылки) известны в данной области техники и могут применяться для получения высокоаффинных антител человека. Антитела могут также быть получены у мышей, трансгенных по генам иммуноглобулинов человека или фрагментам указанных генов и способных, при иммунизации, продуцировать широкий репертуар антител человека при отсутствии продуцирования эндогенных иммуноглобулинов. Указанный подход описан в источниках: Lonberg, *Nat. Biotechnol* 23:1117-1125 (2005), Green et al., *Nature Genet.* 7:13-21 (1994), и Lonberg et al., *Nature* 368:856-859 (1994); патенты США № 5545807, 5545806, 5569825, 5625126, 5633425, 5661016, 6596541, 7105348 и 7368334 (каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки).

IV. Линкеры.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению могут содержать один линкер, несколько линкеров или не содержать линкеров. Соответственно, MRD может быть функционально соединен (связан) с антителом прямо, или функционально присоединен через необязательный линкерный пептид. Аналогичным образом MRD может быть функционально присоединен к одному или большему количеству MRD прямо, или функционально присоединен к одному или большему количеству MRD через один или большее количество необязательных линкерных пептидов. Линкеры могут иметь любые размер или состав при условии, что они способны функционально соединять MRD и антитело таким образом, чтобы указанный MRD позволял MRD-содержащему антителу связывать мишень MRD. Согласно некоторым вариантам реализации размер линкеров составляет приблизительно от 1 до 20 аминокислот, приблизительно от 1 до 15 аминокис-

лот, приблизительно от 1 до 10 аминокислот, приблизительно от 1 до 5 аминокислот, приблизительно от 2 до 20 аминокислот, приблизительно от 2 до 15 аминокислот, приблизительно от 2 до 10 аминокислот или приблизительно от 2 до 5 аминокислот. Линкер может также содержать приблизительно от 4 до 15 аминокислот. Согласно определенным вариантам реализации указанный линкерный пептид включает короткий линкерный пептид с последовательностью GGGG (SEQ ID NO:1), линкерный пептид средней длины с последовательностью SSGGGGSGGGGGSS (SEQ ID NO:2), или длинный линкерный пептид с последовательностью SSGGGG SGGGGGSSRSS (SEQ ID NO:19).

Согласно еще одному варианту реализации MRD встроен в четвертую петлю константной области легкой цепи. Например, указанный MRD может быть встроен между выделенными подчеркиванием символами в следующей последовательности аминокислот:

RTVAAPSVFIFP

PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDKLGTSQESVTEQDSKDSTYSL

SS TLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSLPVTKSFNREGEC (SEQ ID NO:102).

Указанный линкер может также представлять собой непептидный линкер, такой как алкильный линкер или ПЭГ-линкер. Например, могут применяться алкильные линкеры, такие как $\text{-NH-(CH}_2\text{)}_s\text{-C(O)-}$, где $s=2-20$. Указанные алкильные линкеры могут дополнительно быть замещены любой не ограниченной стерически группой, такой как низший алкил (например, $\text{C}_1\text{-C}_6$) низший ацил, галоген (например, Cl, Br), CN, NH_2 , фенил и т.д. Примером непептидного линкера является ПЭГ-линкер. Согласно определенным вариантам реализации указанный ПЭГ-линкер имеет молекулярную массу, составляющую приблизительно от 100 до 5000 кДа, или приблизительно от 100 до 500 кДа.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный линкер представляет собой "расщепляемый линкер", способствующий высвобождению MRD или цитотоксического агента в клетке. Например, может применяться кислотолабильный линкер (например, гидразон), чувствительный к протеазе (например, чувствительный к пептидазе) линкер, фотолabile линкер, диметильный линкер или дисульфид-содержащий линкер (Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992); патент США № 5208020; опубликованная заявка на патент США №20090110753), если требуется, чтобы ковалентная связь между MRD или цитотоксическим агентом и мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащим антителом) расщеплялась внутриклеточно, когда указанная композиция интернализуется клеткой. Термины "внутриклеточно расщепляемый" и "внутриклеточное расщепление" относятся к метаболическому процессу или реакции внутри клетки на конъюгате антитела с лекарственным средством (ADC), в ходе которого разрушается ковалентная связь, т.е. связь посредством линкера, между MRD и цитотоксическим агентом, MRD и антителом, антителом и цитотоксическим агентом, или между двумя доменами MRD, что приводит к отсоединению свободного MRD и/или цитотоксического агента от антитела внутри клетки. Отщепленные фрагменты ADC с антителом Zymab, соответственно, представляют собой внутриклеточные метаболиты.

Оптимизация линкера может оцениваться с применением техник, описанных в примерах 1-18 и техник, известных из других источников в данной области техники. Линкеры предпочтительно не нарушают способность домена MRD и/или антитела связывать целевые молекулы.

V. Антитела, содержащие домены MRD.

При применении способов, описанных в настоящем документе, мультиспецифичность и большая мультивалентность может быть достигнута путем соединения доменов MRD с антителами.

Домены MRD указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), полученные в соответствии с настоящим изобретением, могут быть функционально связаны с антителом через N-конец или C-конец пептида. Указанные MRD могут быть функционально связаны с антителом на C-конце тяжелой цепи антитела, N-конце тяжелой цепи антитела, C-конце легкой цепи антитела или N-конце легкой цепи антитела. Оптимизация состава MRD, локализации связи MRD-антитело и состава линкера может быть выполнена с применением анализов связывания, описанных в примерах 1-18, и биологических анализов и других известных в данной области техники анализов подходящей связанной с мишенью биологической активности.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело представляет собой MRD-содержащее антитело, описанное в заявке на патент США № 61/489249, поданной 24 мая 2011 г., которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно одному варианту реализации мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) содержат MRD, функционально связанные с тяжелой цепью антитела, легкой цепью антитела или и тяжелой, и легкой цепями. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один MRD, соединенный с одним из концов цепи антитела. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере один MRD, функционально связанный с двумя концами цепей антитела. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один MRD, функционально связанный с тремя концами цепей антитела. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один MRD, функционально

связанный с каждым из четырех концов цепей антитела (т.е. с N- и С-концами легкой цепи и с N- и С-концами тяжелой цепи). Согласно некоторым конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один MRD, функционально связанный с N-концом легкой цепи. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один MRD, функционально связанный с N-концом тяжелой цепи. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один MRD, функционально связанный с С-концом легкой цепи. Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один MRD, функционально связанный с С-концом тяжелой цепи.

MRD-содержащее антитело может быть "мультиспецифическим" (например, биспецифическим, триспецифическим, тетраспецифическим, пентаспецифическим или обладать большей мультиспецифичностью), то есть оно распознает и связывается с двумя или большим количеством разных эпитопов, присутствующих на одном или большем количестве разных антигенов (например, белков). Соответственно, то, является ли MRD-содержащее антитело "моноспецифическим" или "мультиспецифическим" (например, биспецифическим, триспецифическим и тетраспецифическим), относится к числу разных эпитопов, с которым связывается указанное MRD-содержащее антитело. Мультиспецифические антитела могут быть специфическими в отношении разных эпитопов целевого полипептида (например, согласно описанию в настоящем документе) или могут быть специфическими в отношении целевого полипептида, а также гетерологичного эпитопа, такого как гетерологичный целевой полипептид или материал твердой подложки. Настоящее изобретение предусматривает получение моно-, би-, три-, тетра- и пентаспецифических антител, а также антител, обладающих большей мультиспецифичностью. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает два разных эпитопа. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает два разных эпитопа одновременно. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает три разных эпитопа. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает три разных эпитопа одновременно. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает четыре разных эпитопа. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает четыре разных эпитопа одновременно. Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает пять разных эпитопов (см., например, фиг. 2D). Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает пять разных эпитопов одновременно. Согласно другим вариантам реализации два домена MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же антиген. Согласно другим вариантам реализации три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять доменов MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же антиген. Согласно другим вариантам реализации по меньшей мере два домена MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же антиген. Согласно другим вариантам реализации по меньшей мере три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять Домены MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же антиген. Согласно другим вариантам реализации два домена MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же эпитоп. Согласно другим вариантам реализации три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять доменов MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же эпитоп. Согласно другим вариантам реализации по меньшей мере два домена MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же эпитоп. Согласно другим вариантам реализации по меньшей мере три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять доменов MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же эпитоп. Согласно другим вариантам реализации указанное антитело и один MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же антиген. Согласно другим вариантам реализации указанное антитело и два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять доменов MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же антиген. Согласно другим вариантам реализации указанное антитело и по меньшей мере один MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же антиген. Согласно другим вариантам реализации указанное антитело и по меньшей мере два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять доменов MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же антиген. Согласно другим вариантам реализации указанное антитело и один MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же эпитоп. Согласно другим вариантам реализации указанное антитело и два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять доменов MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же эпитоп. Согласно другим вариантам реализации указанное антитело и по меньшей мере один MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же эпитоп. Согласно другим вариантам реализации указанное антитело и по меньшей мере два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять доменов MRD MRD-содержащего антитела связывают один и тот же эпитоп.

В настоящем изобретении также предложены два или большее количество доменов MRD, которые соединены с любым концом антитела. Соответственно, согласно одному неисключительному варианту реализации два, три, четыре или большее количество доменов MRD функционально связаны с N-концом тяжелой цепи. Согласно еще одному неисключительному варианту реализации два, три, четыре или большее количество доменов MRD функционально связаны с N-концом легкой цепи. Согласно еще од-

[illegible]

Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере два разных домена MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере три разных домена MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере четыре разных домена MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере пять разных доменов MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере шесть разных доменов MRD. Соответственно, мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит от двух до десяти разных доменов MRD.

тивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) могут быть мономерными по MRD (т.е. содержать один MRD на конце пептидной цепи, в некоторых случаях присоединенный посредством линкера) или мультимерными по MRD (т.е. содержать более одного MRD, при этом MRD, необязательно, последовательно присоединены посредством линкера). Указанные мультимерные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) могут быть гомомультимерными (т.е. содержать более одного идентичного MRD, необязательно, последовательно соединенные линкером(ами) (например, гомодимеры, гомотримеры, гомотетрамеры и т.д.)) или гетеромультимерными (т.е. содержат два или большее количество доменов MRD, включающих по меньшей мере два разных домена MRD, необязательно, соединенные посредством линкера(ов), при этом все или некоторые домены MRD, соединенные с конкретным концом, отличаются (например, гетеродимер, гетеротример, гетеротетрамер и т.д.)). Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит два разных мономерных доменов MRD, расположенных на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит три разных мономерных доменов MRD, расположенных на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит четыре разных мономерных доменов MRD, расположенных на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит пять разных мономерных доменов MRD, расположенных на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит шесть разных мономерных доменов MRD, расположенных на разных концах иммуноглобулина. Согласно альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере один димерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере один гомодимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере один гетеродимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина.

Согласно альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере один мультимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере один гомомультимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит по меньшей мере один гетеромультимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина.

Согласно альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит домены MRD, функционально связанные по меньшей мере с двумя разными концами иммуноглобулина. Согласно конкретному варианту реализации указанные домены MRD, соединенные по меньшей мере с одним из иммуноглобулинов представляют собой мультимер. Согласно одному варианту реализации указанные домены MRD, соединенные по меньшей мере с одним из иммуноглобулинов, представляют собой гомомультимер (т.е. более одного одинакового MRD последовательно функционально связаны, необязательно, соединяясь посредством линкера). Согласно еще одному варианту реализации указанные домены MRD, соединенные по меньшей мере с одним из иммуноглобулинов, представляют собой гетеромультимер (т.е. два или большее количество разных доменов MRD функционально связаны последовательно, необязательно, соединяясь посредством линкера). Согласно дополнительному варианту реализации указанные домены MRD, соединенные по меньшей мере с одним из иммуноглобулинов, представляют собой димер. Согласно еще одному варианту реализации указанные домены MRD, соединенные по меньшей мере с одним из иммуноглобулинов, представляют собой гомодимер. Согласно еще одному варианту реализации указанные домены MRD, соединенные по меньшей мере с одним из иммуноглобулинов, представляют собой гетеродимер. Указанные несколько MRD могут быть нацелены на один и тот же сайт связывания мишени, или на два или большее количество разных сайтов связывания мишени. Если домены MRD связываются с разными сайтами связывания мишени, указанный сайты связывания могут располагаться на одной и той же или на разных целевых молекулах.

Аналогичным образом, антитело и MRD в мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащем антителе) может связываться с одной и той же целевой молекулой или с разными целевыми молекулами.

Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один MRD и антитело в мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащем антителе) могут связываться со своими мишенями одновременно. Согласно одному варианту реализации каждый MRD в мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащем антителе) и антитело могут связываться со своей мишенью одновременно. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или большее количество мишеней одновременно. Способность мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащее антитело) связываться с множеством мишеней одновременно может быть проанализирована с применением способов, известных в данной области техники, включая, например, способы, описанные в приведенных ниже примерах.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции, обладающие моновалентной специфичностью.

Согласно дополнительным вариантам реализации мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению, содержащие единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывают) мишень.

Согласно некоторым вариантам реализации антигенсвязывающие домены антитела-компонента мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, предложенной в настоящем изобретении, связываются с разными целевыми эпитопами (т.е. указанное антитело является биспецифическим). Предполагается, что термин "биспецифические антитела" включает любое антитело, обладающее двумя разными видами связывающей специфичности, т.е. указанное антитело связывает два разных эпитопа, которые могут быть расположены на одном целевом антигене, или, чаще, на разных целевых антигенах. Способы получения биспецифических антител известны в данной области техники. (См., например, Millstein et al., *Nature*, 305:537-539 (1983); Traunecker et al., *EMBO J.* 10:3655-3659 (1991); Suresh et al., *Methods in Enzymology* 121:210 (1986); Kostelny et al., *J. Immunol.* 148(5): 1547-1553 (1992); Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993); Gruber et al., *J. Immunol.* 152:5368 (1994); Tutt et al., *J. Immunol.* 147:60-69 (1991); патенты США № 4474893, 4676980, 4714681, 4925648, 5573920, 5601819, 5731168, 5807706 и 5821333; опубликованные международные заявки № WO94/04690, WO91/00360, WO92/05793, WO92/08802, WO92/200373, WO93/17715, WO00/44788 и WO02/096948; EP 1870459A1 и EP 03089, содержание каждой из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки). Один способ получения биспецифических антител был назван стратегией "выступы-вопьядины" (см., например, межд. публ. WO2006/028936). Ошибочное спаривание тяжелых цепей Ig при применении указанной технологии снижается за счет мутирования выбранных аминокислот, образующих поверхность СН3-доменов IgG. В положениях в пределах СН3-домена, где происходит прямое взаимодействие двух тяжелых цепей, в последовательность одной тяжелой цепи вводят аминокислоту с небольшой боковой цепью ("впадина"), а в положение, соответствующее взаимодействующему остатку на другой тяжелой цепи вводят аминокислоту с большой боковой цепью ("выступ"). Согласно некоторым вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат цепи иммуноглобулина, СН3-домены которых были модифицированы путем мутирования выбранных аминокислот, взаимодействующие в области поверхности между двумя полипептидами таким образом, что преимущественно образуется биспецифическое антитело. Указанные биспецифические антитела могут состоять из цепей иммуноглобулина одного подкласса (например, IgG1 или IgG3) или разных подклассов (например, IgG1 и IgG3, или IgG3 и IgG4).

Согласно одному варианту реализации биспецифическое антитело-компонент мультиспецифической и мультивалентной композиции (например, MRD-содержащего антитела) содержит мутацию Т366W в "цепи с выступами" и мутации Т366S, L368A, Y407V в "цепи с впадинами", и, необязательно, дополнительный межцепочечный дисульфидный мостик между СН3-доменами, например, за счет введения мутации Y349C в "цепь с выступами" и мутации E356C или мутации S354C в "цепи с впадинами"; мутаций R409D, K370E в "цепь с выступами" и мутаций D399K, E357K в "цепь с впадинами"; мутаций R409D, K370E в "цепь с выступами" и мутаций D399K, E357K в "цепь с впадинами"; мутации Т366W в "цепь с выступами" и мутаций Т366S, L368A, Y407V в "цепь с впадинами"; мутаций R409D, K370E в "цепь с выступами" и мутаций D399K, E357K в "цепь с впадинами"; мутаций Y349C, Т366W в одну из цепей, и мутаций E356C, Т366S, L368A, Y407V в ответную цепь; мутаций Y349C, Т366W в одну цепь и мутаций S354C, Т366S, L368A, Y407V в ответную цепь; мутаций Y349C, Т366W в одну цепь и мутаций S354C, Т366S, L368A, Y407V в ответную цепь; мутаций Y349C, Т366W в одну цепь и мутаций S354C, Т366S, L368A, Y407V в ответную цепь (нумерация в соответствии с индексом EU по Kabat).

Согласно некоторым вариантам реализации биспецифическое антитело-компонент композиции, предложенной в настоящем изобретении (например, MRD-содержащее антитело) представляет собой

IgG4-антитело или модифицированное IgG4-антитело, или содержит тяжелую цепь IgG4 или модифицированную тяжелую цепь IgG4. IgG4-антитела представляют собой динамические молекулы, в которых происходит обмен Fab-фрагментами посредством перестановки местами тяжелой цепи IgG4 и присоединенной легкой цепи с парой тяжелая цепь/легкая цепь другой молекулы IgG4, соответственно, что приводит к образованию биспецифических антител.

Соответственно, обмен Fab-фрагментами посредством перестановки в MRD-содержащих IgG4-антителах, запущенный *in vivo* или *in vitro* в физиологических условиях, приводит к образованию композиций с биспецифическим антителом. Согласно конкретным вариантам реализации тяжелая цепь IgG4 в композиции, предложенной в настоящем изобретении, содержит замену S228P. Было показано, что указанная замена значительно ингибирует обмен Fab-фрагментами в полученных мутантных антителах IgG4, и, таким образом, снижает вероятность обмена Fab-фрагментами между рекомбинантным антителом и эндогенным IgG4. (См., например, Labrijn et al., Nat. Biotechnol. 27(8):767-71 (2009)). Согласно дополнительным вариантам реализации тяжелая цепь IgG4 композиции, предложенной в настоящем изобретении, содержит замену Arg в положении 409 (например, на Lys, Ala, Thr, Met или Leu), Phe в положении 405 (например, на Lys, Ala, Thr, Met или Leu) или Lys в положении 370. Согласно другим вариантам реализации область CH3 тяжелой цепи IgG4 композиции, предложенной в настоящем изобретении, заменяли на область CHN3 IgG1, IgG2 или IgG3. Согласно дополнительным вариантам реализации взаимодействия между одним или большим количеством доменов MRD, расположенных на С-концах отдельных тяжелых цепей (например, IgG4, или IgG4 и IgG3), благоприятствуют и/или стабилизируют гетеродимеры между тяжелыми цепями, или иным образом уменьшает обмен Fab-фрагментами в гетеродимере.

Примеры биспецифических антител-компонентов мультивалентных и мультиспецифических композиций, предложенных в настоящем изобретении, включают гетеродимеры цепей IgG4 и IgG1, IgG4 и IgG2, IgG4 и IgG2, IgG4 и IgG3, IgG1 и IgG3. Такие антитела с гетеродимерными тяжелыми цепями могут рутинным образом быть сконструированы, например, путем модификации выбранных аминокислот, образующих поверхность CH3-доменов IgG4 и IgG1 или IgG3 человека, таким образом, чтобы способствовать образованию гетеродимерной тяжелой цепи. Согласно дополнительным вариантам реализации взаимодействие между одним или несколькими доменами MRD, расположенными на С-концах гетеромерных тяжелых цепей, благоприятствует образованию или структуре, или стабилизирует образование или структуру гетеромультимеров, соответственно. Известно, что IgG4-антитела обладают пониженной АЗКЦ-активностью и периодом полувыведения по сравнению с иммуноглобулинами других подклассов, например, IgG1 и IgG3. Соответственно, форматы на основе подкласса IgG4 представляют собой привлекательный формат для разработки терапевтических средств, которые связывают и блокируют клеточные рецепторы, но не истощают целевые клетки. Как вариант, во вариантах реализации, для которых требуется повышенная эффекторная активность, тяжелая цепь IgG4 композиции, предложенной в настоящем изобретении, может быть модифицирована согласно описанию в настоящем документе или известным в данной области техники способом так, чтобы усилить эффекторную функцию (например, модификацией остатков в положениях 327, 330 и 331; нумерация в соответствии с индексом EU по Kabat). Аналогичным образом, если требуется увеличенный период полувыведения, тяжелая цепь IgG4 композиции, предложенной в настоящем изобретении, может быть сконструирована согласно описанию в настоящем документе или известным в данной области техники способом так, чтобы более селективно связывать FcRn при pH 6,0, но не при pH 7,4, например, путем введения мутаций на поверхности между доменами CH2 и CH3, например, замен T250Q/M428L, а также M252Y/S254T/T256E и H433K/N434F (нумерация в соответствии с индексом EU по Kabat). Как было показано в примерах выше, предполагается, что, согласно некоторым вариантам реализации, мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению содержат единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывают мишень). Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания (т.е. моновалентный сайт связывания) представляет собой антигенсвязывающий домен антитела. Согласно другим вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой MRD. Соответственно, мультивалентные и мультиспецифические композиции, предложенные в настоящем изобретении, включают (и могут быть рутинным образом сконструированы так, чтобы включать) MRD-содержащие антитела, которые содержат 1, 2, 3, 4 или большее количество единственных сайтов связывания мишени. Указанный(ые) единственный(ые) сайт(ы) связывания может(гут) обеспечиваться одним или большим количеством доменов MRD, расположенных на одном или более из 4 концов тяжелых цепей иммуноглобулина или 4 концов легких цепей иммуноглобулина. Кроме того, единственный сайт связывания может обеспечиваться одним из антигенсвязывающих доменов указанного антитела (при этом MRD MRD-содержащего антитела связывает тот же целевой эпитоп другого антигенсвязывающего домена указанного антитела. Более того, согласно конкретному варианту реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, включают (и могут быть рутинным образом сконструированы так, чтобы включать) MRD-содержащие антитела, которые содержат 1, 2, 3, 4 или большее количество единственных сайтов связывания мишени и не связывают бивалентно другую мишень.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная

мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащие антитела) содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывает мишень) на клеточной поверхности, образующей мультимеры (например, гомомеры или гетеромеры). Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания связывает мишень на клеточной поверхности, требующую мультимеризации для сигнализации. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит единственный сайт связывания, который связывает мишень на клеточной поверхности и ингибирует связывание другой молекулы (такой как лиганд) с мишенью на клеточной поверхности. Согласно другим вариантам реализации связывание единственного сайта связывания ингибирует мультимеризацию мишени (например, гомомерную и гетеромерную мультимеризацию). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция содержит единственные сайты связывания других мишеней (т.е. моновалентно связывает более чем одну другую мишень). Согласно некоторым вариантам реализации указанный несколько единственных сайтов связывания композиции связывают мишени на одной и той же клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные несколько единственных сайтов связывания композиции связывают мишени на разных клетках. В данной области техники известны многочисленные рецепторы, требующие мультимеризацию для изменения их нормальной функции. Такие рецепторы предположительно являются мишенями единственных сайтов связывания в мультивалентных и мультиспецифических композициях (например, MRD-содержащих антителах) согласно настоящему изобретению. Согласно некоторым вариантам реализации указанная композиция содержит единственный сайт связывания рецепторной тирозинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанная композиция содержит единственный сайт связывания рецептора фактора роста. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция содержит единственный сайт связывания рецептора, связанного с G-белком. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция содержит единственный сайт связывания рецептора хемокина. Согласно другим вариантам реализации указанная композиция содержит единственный сайт связывания представителя суперсемейства рецепторов ФНО. Согласно конкретным вариантам реализации указанная композиция содержит единственный сайт связывания рецептора, выбранного из: рецептора конечных продуктов гликозилирования

(RAGE), c-Met, ErbB2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-III), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, рТцФР-А, рТцФР-В, нетрина, CD28, TNFRSF1A (TNFR1, р55, р60), TNFRSF1B (TNFR2), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF21 или TNFRSF25, TNFRSF7 (CD27), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFRSF8 (CD30), TNFSF11 (RANKL), TNFRSF11A (RANK), TNFRSF21 (DR6), TNFRSF25 (DR3) и LRP6.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывает мишень) на клеточной поверхности, образующей мультимер, и содержит несколько сайтов связывания двух или большего количества других мишеней (т.е. мультивалентно связывает мишени). Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени на клеточной поверхности и несколько сайтов связывания 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней. Согласно дополнительным вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, расположены на поверхности клетки. Согласно другим вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляют собой растворимые мишени (например, хемокины, цитокины и факторы роста). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, описанных в настоящем документе. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мишени, связываемые указанной композицией, представляют собой опухолевые антигены (включая опухолевые антигены и опухолеассоциированные антигены). Согласно дополнительным вариантам реализации мишень, связываемая указанной композицией, связана с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации мишень, связываемая указанной композицией, связана с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом), сердечно-сосудистой системы, нервной системы, или с инфекционным заболеванием.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело содержит единственный сайт связывания TNFRSF21 (DR6). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит единственный сайт связывания DR6 и связывает мишень, выбранную из: AGE (S100 A, амфотерин), ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-18, ИЛ-12, ИЛ-23, TNFSF12 (TWEAK), ФНО-альфа, ФРЭС, TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), интерферон гамма, ГМКСФ, ФРФ, CXCL13, MCP1, CCR2,

NogoA, RGM A, OMGr MAG, CPSG, LINGO, альфа-синуклеина, семафорина (например, семафорина 3A, семафорина 4), эфрина, VLA4, CD45, RB, C5, CD52 и CD200. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают DR6 и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Указанные композиции находят применение в лечении заболеваний и расстройств, включающих неврологические заболевания и расстройства, такие как рассеянный склероз и другие нейродегенеративные заболевания. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает DR6. Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело содержит единственный сайт связывания TNFRSF25 (DR3). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит единственный сайт связывания DR3 и связывает мишень, выбранную из: ФНО, ИФН-альфа, ИФН-гамма, ИЛ-1, ИЛ-1-бета, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23 и ИЛ-32. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают DR3 и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Указанные композиции находят применение в лечении заболеваний и расстройств, включая воспалительное заболевание кишечника и аутоиммунные заболевания, такие как ревматоидный артрит. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает DR3.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащие антитела) содержит несколько сайтов связывания мишени (т.е. мультивалентно связывает мишень) на клеточной поверхности, образующих мультимеры (например, гомомеры или гетеромеры). Согласно некоторым вариантам реализации указанные несколько сайтов связывания связывают мишень на клеточной поверхности, требующей мультимеризации для сигнализации. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит несколько сайтов связывания мишени на клеточной поверхности. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание нескольких сайтов связывания приводит к мультимеризации мишени (например, гомомерной и гетеромерной мультимеризации). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция содержит несколько сайтов связывания других мишеней (т.е. мультивалентно связывает более чем одну другую мишень). Согласно некоторым вариантам реализации несколько единственных сайтов связывания композиции связывают мишени на одной и той же клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации несколько единственных сайтов связывания композиции связывают мишеней на разных клетках. В данной области техники известны многочисленные рецепторы, требующие мультимеризации для изменения их нормальной функции. Такие рецепторы предположительно являются мишенями указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител). Согласно некоторым вариантам реализации указанная композиция содержит несколько сайтов связывания рецепторной тирозинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанная композиция содержит несколько сайтов связывания рецептора фактора роста. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция содержит несколько сайтов связывания рецептора, связанного с G-белком. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция содержит несколько сайтов связывания рецептора хемокина. Согласно другим вариантам реализации указанная композиция содержит несколько сайтов связывания представителя суперсемейства рецепторов ФНО. Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает TNFRSF10A (DR4). Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает DR4 и мишень, выбранную из: ErbB2, рЭФР, рИФР-1, TNFRSF10b (DR5), CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, TNFRSF5 (CD40), TNFRSF9 (41BB), ИЛ-6 и ИФР-1,2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают DR4 и также связывают по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Указанные композиции находят применение в лечении заболеваний и расстройств, включающих такие раковые заболевания, как рак молочной железы, рак толстой и прямой кишки, рак головы и шеи, В-клеточные лимфомы, лейкоз ворсистых клеток, хронический В-клеточный лимфолейкоз и меланомы. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает DR4. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой CS1008 или мапатумумаб.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает TNFRSF10B (DR5). Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает DR5 и мишень, выбранную из: ErbB2, рЭФР, рИФР-1, TNFRSF10A (DR4), CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD138, синдекана, CD39, TNFRSF5 (CD40), TNFRSF 9 (41BB), ИЛ-6 и ИФР-1,2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают DR5 и также связывают по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Указанные композиции находят применение при лечении заболеваний и расстройств, в том числе раковых заболеваний, таких как рак молочной железы, рак толстой и прямой кишки, рак головы и шеи, В-клеточных лимфом, лейкоза ворсистых клеток, хронического В-клеточного

лимфолейкоза и меланомы. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает DR5. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой LBY135, AMG66, апомаб, PRO95780, лексатумумаб, конатумумаб или тигатузумаб.

Композиции, перенаправляющие функцию эффекторных клеток.

Настоящее изобретение также охватывает такие мультивалентные и мультиспецифические композиции, как мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), способные сближать эффекторные клетки хозяина с клетками, которые требуется устранить (например, иммунными клетками, раковыми клетками, пораженными заболеванием клетками, инфекционными агентами и клетками, инфицированными инфекционными агентами). Мультивалентные и мультиспецифические функциональные группы предложенных в настоящем изобретении композиций, в частности, хорошо подходят для перенаправления иммунного ответа у хозяина и обеспечивают многочисленные преимущества по сравнению с альтернативными разрабатываемыми платформами на основе мультиспецифических композиций. Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает:

(1) мишень на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес (например, иммунная клетка или опухолевый антиген на опухолевой клетке) и

(2) мишень на эффекторной клетке, с тем чтобы направлять иммунный ответ на клетку, ткань или инфекционный агент, представляющий(ую) интерес.

Мишень(и) с которой(ыми) связывается указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция, може(гу)т быть мономерной(ыми) или мультимерной(ыми). Кроме того, мультимерная мишень, с которой связывается мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция, может быть гомомультимерной или гетеромультимерной. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 2, 3, 4 или 5 мишеней на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес. Согласно дополнительным вариантам реализации одна или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляет(ют) собой опухолевый антиген (например, опухолевые антигены и опухолеассоциированные/ассоциированные с раком антигены). Указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции также находят применение в лечении заболеваний и расстройств, включая, но не ограничиваясь перечисленными, заболевания иммунной системы, скелетной системы, сердечно-сосудистой системы и нервной системы, а также инфекционное заболевание. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы (например, заболеванием или расстройством иммунной системы, описанным в настоящем документе, таким как воспаление или аутоиммунное заболевание (например, ревматоидный артрит)). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом или другим заболеванием или расстройством скелетной системы, описанным в настоящем документе). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством сердечно-сосудистой системы (например, заболеванием или расстройством сердечно-сосудистой системы, описанным в настоящем документе). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством нервной системы (например, заболеванием или расстройством нервной системы, описанным в настоящем документе). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с инфекционным агентом или заболеванием (например, инфекционным заболеванием или агентом, описанным в настоящем документе).

Эффекторные клетки, которые может связывать мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) согласно настоящему изобретению, включают, не ограничиваясь перечисленными, Т-клеток, моноциты/макрофаги и естественные клетки киллеры.

Согласно одному варианту реализации мишень на клетке, на которую мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) направляет иммунный ответ, представляет собой опухолевый антиген. Мультивалентные и мультиспецифические композиции, предложенные в настоящем изобретении (например, MRD-содержащие антитела), предположительно способны связывать опухоль и опухолевый антиген практически любого типа. Примеры типов опухолей, на которые может обеспечиваться нацеливание, включают, не ограничиваясь перечисленными, одно или большее количество раковых заболеваний, выбранных из группы: рака толстой и прямой киш-

ки, рака пищевода, рака желудка, рака головы и шеи, рака щитовидной железы, множественной миеломы, рака почки, рака поджелудочной железы, рака легкого, рака желчных протоков, глиомы, меланомы, рака печени, рака предстательной железы и рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака яичника, рака шейки матки и рака эндометрия. Примеры типов опухолей, на которые может обеспечиваться нацеливание, включают гематологические раковые заболевания. Гематологические раковые заболевания, которые могут быть мишенями, включают, не ограничиваясь перечисленными, одно или большее количество раковых заболеваний, выбранных из группы: лимфомы Ходжкина, медуллярной неходжкинской лимфомы, острого лимфобластного лейкоза, лимфоцитарного лейкоза и хронического миелогенного лейкоза, острого миелогенного лейкоза. Примеры опухолевых антигенов включают ErbB1, ErbB2, ErbB3, рФРЭС-1, рецептор ФРЭС-2, рЭФР-вариант III, CD16, CD19, CD20, онкостатин М, ПСА, PCMA, интегрин $\alpha v \beta 6$, ADAM9, CD22, CD23, CD25, CD28, CD36, CD45, CD46, CD56, CD79a/CD79b, CD 103, JAM-3, gp100, ALCAM, PIPA, A33, карбоксипептидазу М, Е-кадгерин, CA125, CDK4, РЭА, CTLA-4, RAAG10, рецептор трансферрина, р-15, GD2, MUM-1, MAGE-1, MAGE-3, KSA, MOC31, MIC-1, EphA2, GAGE-1, GAGE-2, MART, KID31, CD44v3, CD44v6 и ROR1. Дополнительные примеры опухолевых антигенов описаны в настоящем документе и/или известны в данной области техники.

Согласно одному варианту реализации мишень на клетке, на которую мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) направляет иммунный ответ, представляет собой иммунную клетку или воспалительную клетку.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение включает мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию, которая связывает опухолевый антиген, экспрессируемый не собственно на опухолевых клетках, а на окружающих реактивных и поддерживающих опухоль незлокачественных клетках, включая опухолевую строму (т.е. опухолеассоциированные антигены). Опухолевая строма содержит эндотелиальные клетки, формирующие новые кровеносные сосуды, и стромальные фибробласты, окружающие сосудистую сеть опухоли. Согласно одному варианту реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает опухолеассоциированный антиген на эндотелиальной клетке. Согласно дополнительному варианту реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает опухолевый антиген и также связывает опухолеассоциированный антиген на фибробласте. Согласно дополнительному варианту реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает опухолевый антиген и также связывает белок активации фибробластов (FAP).

Инфекционные агенты, на которые мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) может направлять иммунный ответ, включают, не ограничиваясь перечисленными, прокариотические и эукариотические клетки, вирусы (в том числе бактериофаги), инородные объекты (например, токсины) и инфекционные организмы, такие как грибы и паразиты (например, паразиты млекопитающих), согласно описанию в настоящем документе, и инфекционные агенты, связанные с инфекционными заболеваниями, описанными в настоящем документе. Предполагается также, что термин "инфекционные агенты" охватывает другие прокариотические и эукариотические клетки, вирусы (в том числе бактериофаги), инородные объекты (например, токсины), и инфекционные организмы, такие как грибы и паразиты, известные из других источников в данной области техники.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает:

(1) мишень на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке) и

(2) содержит единственный сайт связывания мишени на эффекторной клетке, с тем, чтобы направлять иммунный ответ на клетку, ткань или инфекционный агент, представляющий(ую) интерес.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой MRD. Согласно другим вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой антигенсвязывающий домен антитела. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции не возбуждает сигнал при связывании указанной композицией мишени на эффекторной клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 2, 3, 4 или 5 мишеней на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции расположены на поверхности клетки. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляют собой опухолевый антиген (например, опухолевые антигены и опухолеассоциированные/ассоциированные с раком антигены). Согласно дополнительным вариантам реализации одна или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации одна или большее количество мишеней

ней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопороз), сердечно-сосудистой системы, нервной системы, или с инфекционным заболеванием.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает:

(1) мишень на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке) и

(2) мишень на лейкоците, с тем чтобы направлять иммунный ответ на клетку, ткань или инфекционный агент, представляющий(ую) интерес.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 2, 3, 4 или 5 мишеней на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции расположены на поверхности клетки. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества мишеней, описанных в настоящем документе. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляют собой опухолевый антиген (например, опухолевые антигены и опухолеассоциированные/ассоциированные с раком антигены). Согласно дополнительным вариантам реализации одна или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации одна или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом), сердечно-сосудистой системы, нервной системы, или с инфекционным заболеванием.

Настоящее изобретение также охватывает мультивалентные и мультиспецифические композиции, которые связывают мишень, экспрессируемую на лейкоците. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает:

(1) мишень на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке) и

(2) содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците, с тем чтобы направлять иммунный ответ на клетку, ткань или инфекционный агент, представляющий(ую) интерес.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 2, 3, 4 или 5 мишеней на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции расположены на поверхности клетки. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией представляет собой опухолевый антиген (например, опухолевые антигены и опухолеассоциированные/ассоциированные с раком антигены). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопороз), сердечно-сосудистой системы, нервной системы, или с инфекционным заболеванием. Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, экспрессируемую на Т-клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает:

(1) мишень на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке) и

(2) мишень на Т-клетке, с тем, чтобы сблизить миелоидные клетки с клеткой, тканью или инфекционным агентом, представляющим(ей) интерес.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания мишени (т.е. мультивалентно связывает мишень) на Т-клетке. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывает мишень) на Т-клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой MRD. Согласно другим вариантам реализации указанный

единственный сайт связывания представляет собой антигенсвязывающий домен антитела. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции не возбуждает сигнал при связывании указанной композицией мишени на Т-клетке. Согласно другим вариантам реализации связывание указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции не приводит к лизису Т-клетки, экспрессирующей указанную мишень. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, выбранную из: CD2, CD3, CD4, CD8, CD161, рецептора хемокина, CD95 и CCR5. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 2, 3, 4 или 5 мишеней на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции расположены на поверхности клетки. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляет собой опухолевый антиген (например, опухолевые антигены и опухолеассоциированные/ассоциированные с раком антигены). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопороз), сердечно-сосудистой системы, нервной системы, или с инфекционным заболеванием. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит гибридный белок, содержащий один или большее количество пептидов, которые связываются с белком на поверхности клетки, такой как Т-клетка. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает целевые ближайшие к мембране белковые последовательности на клетке и ингибирует перекрестное сшивание (например, мультимеризацию) целевого белка или ассоциированных с ним белков. Согласно конкретному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывается с Т-клеткой и ингибирует перекрестное сшивание клеточного белка или ассоциированных с ним белков. Например, согласно одному варианту реализации указанный мультивалентные и мультиспецифические антитело содержит 27 аминоконцевых аминокислот зрелого CD3-эпсилон. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит гибридный белок, содержащий один или большее количество белков, соответствующих G-домену белка CD3 (например, CD3-эпсилон, CD3-гамма, CD3-альфа (TCRA) или CD3-бета (TCRB)). Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанный гибридный белок содержит полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из:

GYVVCYPRGSKPEDANFYLYLR

ARVC (SEQ ID NO:21), YLYLRAR (SEQ ID NO:22), YRCNGTDIYKDKESTVQ

VHYRMC (SEQ ID NO:23) и DKESTVQVH (SEQ ID NO:24).

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная композиция содержит гибридный белок, содержащий одну или большее количество белков, соответствующих фрагменту внеклеточного домена белка CD3 (например, CD3-эпсилон, CD3-гамма, CD3-альфа (TCRA) или CD3-бета (TCRB)), который способен связывать CD3 или мультимер CD3. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанный гибридный белок содержит фрагмент белка CD3, который способен связывать CD3 или мультимер CD3, причем указанный фрагмент содержит связывающий CD3 фрагмент полипептида, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из:

KPIEELEDRVFN CNTSITWVEG

TVGTLLSDITRLDLGKRILDPRIYRCNGTDIY KDKESTVQVHYRMCQSCVELD
(зрелый внеклеточный домен (ECD) CD3-дельта человека, SEQ ID NO: 25),
QSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAEAK

NITWFKDGKMIGFLTEDKKKWNLSNAKDPRGM YQCKGSQNKSKPLQVYYRM
CQNCIELN

(зрелый ECD CD3-гамма человека, Ig-подобный домен выделен; SEQ ID NO: 26),
GNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGEDDKNIGS

DEDHL SLKEFSELEQSGYVVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVM

(зрелый ECD CD3-эпсилон человека, Ig-подобный домен выделен, SEQ ID NO: 27) и QSFGLLDPK (зрелый ECD CD3-зета человека, SEQ ID NO: 28). Согласно альтернативным вариантам реализации указанный гибридный белок содержит фрагмент хемокина, который связывает мишень на клеточной поверхности. Согласно некоторым вариантам реализации указанный фрагмент хемокина представляет собой фрагмент хемокина, выбранный из: CCL20 (LARC/Скβ4), CCL25 (TECK/Скβ15), CXCL12 (SDF-1),

CXCL13 (BCA-1), CXCL16 (SRPSOX) и CX3CL1 (Фракталин). Согласно некоторым вариантам реализации указанный фрагмент хемокина представляет собой фрагмент хемокина, выбранный из: CCL5 (RANTES), CCL8 (MCP-2), CXCL9 (MIG/CRG-10), CXCL10 (IP-10/CRG-2) и CXCL11 (TAC/IP-9). Согласно некоторым вариантам реализации указанный фрагмент хемокина представляет собой фрагмент хемокина, выбранный из CCL3 (MIP-1a) и CCL4 (MIP-1B).

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение включает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), которое связывает CD3 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 4329-4492 и 4493, приведенных в табл. 22. Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание CD3 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 4329-4492 и 4493. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), которое связывается с тем же эпитопом CD3, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 4329-4492 и 4493.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), который(ая/ое) связывает CD3 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из:

IALMCSMHFDEVVWCSPYY (CD31916; SEQ ID NO:4494); PLMLCRHMKHFEYYC
WPLA (CD3437; SEQ ID NO:4495); PVICQWTLELQCSPWT (CD3914; SEQ ID
NO:4496); ILLECYWEDWRLVCSSLA (CD3434; SEQ ID NO:4497);
KGTCWWHLEATCFATS (CD3702; SEQ ID NO:4498); и LREICVKVPYGVVCQRLP
(CD31913; SEQ ID NO:4499).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию, конкурирующую(ий) за связывание CD3 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 4494-4498 и 4499. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), который(ая/ое) связывается с тем же эпитопом CD3, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 4494-4498 и 4499. Согласно конкретным вариантам реализации указанная композиция связывает CD3-мишень, выбранную из CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD3-гамма, CD3-зета, TCR-альфа, TCR-бета, комплекс TCR или их гетеромерную или гомомультимерную комбинацию. Согласно дополнительному варианту реализации указанная композиция связывает CD3-эпсилон. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3 и несколько сайтов связывания 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней (например, опухолевый антиген согласно описанию в настоящем документе или известный в данной области техники). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывает) CD3. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный MRD, который связывает CD3 и несколько сайтов связывания 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней (например, опухолевый антиген согласно описанию в настоящем документе или известный в данной области техники). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный антигенсвязывающий домен антитела, который связывает CD3 и несколько сайтов связывания 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней (например, опухолевый антиген согласно описанию в настоящем документе или известный в данной области техники). Согласно конкретным вариантам реализации связывающие CD3 композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает CD3 человека и ортолог CD3 из другого организма. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3 человека и ортолог CD3 другого примата. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3 человека и ортолог CD3 яванского макака или макака-резуса. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3 человека и ортолог CD3 примата, выбранного из *Saguinus Oedipus* и *Callithrix jacchus*). Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3 человека, ортолог CD3 яванского ма-

кака и ортолог CD3 мыши или крысы. Согласно конкретным вариантам реализации связывающие CD3-эпсилон человека композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами. Согласно дополнительным конкретным вариантам реализации связывающие CD3 композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами.

В соответствии с одним вариантом реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает CD3-эпсилон человека. Согласно конкретному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает белок CD3-эпсилон человека, имеющий последовательность аминокислот 23-207, приведенную в референсной последовательности NCBI №NP_000724. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает полипептид, имеющий последовательность аминокислот QDGNEEMGGITQTRYKVSISGTT VILT (SEQ ID NO:29).

Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает полипептид, имеющий последовательность аминокислот QDGNEEMGGI (SEQ ID NO:30).

Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает полипептид, имеющий последовательность аминокислот QDGNEEMGG (SEQ ID NO:31).

Согласно конкретным вариантам реализации связывающие CD3-эпсилон человека композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами.

Согласно некоторым вариантам реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) содержит единственный сайт связывания CD3-эпсилон (т.е. моновалентно связывает CD3-эпсилон) и несколько сайтов связывания 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней (например, В-клетки или другой мишени, раскрытой в настоящем документе). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) конкурирует за связывание с CD3 с антителом, выбранным из: OKT-3, отеликсизумаба, теплизумаба, визилизумаба, муромонаба, X35-3, VIT3, BMA030 (BW264/56), CLB-T3/3, CRIS7, YTH12.5, F111409, CLB-T3.4.2, TR-66, WT31, WT32, SPv-T3b, 11D8, XIII-141, XIII46, XIII-87, 12F6, T3/RW2-8C8, T3/RW24B6, OKT3D, M-T301, SMC2 и F101.01. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание с CD3 с антителом, выбранным из: OKT-3, отеликсизумаба, теплизумаба, визилизумаба, муромонаба X35-3, VIT3, BMA030 (BW264/56), CLB-T3/3, CRIS7, YTH12.5, F111409, CLB-T3.4.2, TR-66, WT31, WT32, SPv-T3b, 11D8, XIII-141, XIII46, XIII-87, 12F6, T3/RW2-8C8, T3/RW24B6, OKT3D, M-T301, SMC2 и F101.01. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) конкурирует за связывание с CD3 со связывающей CD3 композицией, раскрытой в опубликованных международных заявках №WO2004/106380 и №WO99/54440; Tunnacliffe et al., *Int. Immunol.* 1:546-550 (1989); Kjer-Nielsen, *PNAS* 101:7675-7680 (2004); или у Salmeron et al., *J. Immunol.* 147: 3047-3052 (1991).

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает CD3-эпсилон человека и ортолог CD3-эпсилон из другого организма. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает CD3-эпсилон человека и ортолог CD3-эпсилон другого примата. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3-эпсилон человека и ортолог CD3-эпсилон яванского макака или макака-резуса. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3-эпсилон человека и ортолог CD3-эпсилон примата, выбранного из *Saguinus Oedipus* и *Callithrix jacchus*. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3-эпсилон человека, ортолог CD3-эпсилон яванского макака и ортолог CD3-эпсилон мыши или крысы. Согласно конкретным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-эпсилон. Согласно другому варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает CD3-дельта человека. Согласно конкретному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD3-дельта человека, имеющий последовательность аминокислот 22-171, приведенную в референсной последовательности NCBI №NP_000723. Согласно конкретным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-дельта. Согласно другим вариантам реализации антигенсвязывающий домен антитела указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-дельта. Согласно конкретным вариантам реализации связывающие CD3-эпсилон человека композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами.

Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает белок человека CD3-гамма, имеющий последовательность аминокислот 23-182, приведенную в референсной последовательности NCBI № NP_000064. Согласно конкретным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-гамма. Согласно конкретным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-гамма. Согласно другим вариантам реализации антигенсвязывающий домен антитела указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-гамма. Согласно конкретным вариантам реализации связывающие CD3-гамма человека композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами.

Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает белок CD3-зета человека, имеющий последовательность аминокислот 22-164, приведенную в референсной последовательности NCBI № NP_932170. Согласно конкретным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-зета. Согласно другим вариантам реализации антигенсвязывающий домен антитела указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3-зета. Согласно конкретным вариантам реализации связывающие CD3-зета человека композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами.

Настоящее изобретение также охватывает мультивалентные и мультиспецифические композиции, которые связывают мишень, экспрессируемую на естественной клетке киллере. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает:

(1) мишень на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке) и

(2) мишень на естественной клетке киллере.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания мишени (т.е. мультивалентно связывает мишень) на естественной клетке киллере. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывает мишень) на естественной клетке киллере. Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой MRD. Согласно другим вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой антигенсвязывающий домен антитела. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции не возбуждает сигнал при связывании указанной композицией мишени на естественной клетке киллере. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, выбранную из: KLRD1, KLRK1, KLRB1, 2B4 (CD244), KIR2D4, KIR2D5 и KIR3DL1. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, выбранную из: CD56, CD2 и CD161. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 2, 3, 4 или 5 мишеней на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции расположены на поверхности клетки. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляют собой опухолевый антиген (например, опухолевые антигены и опухолеассоциированные/ассоциированные с раком антигены). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом), сердечно-сосудистой системы, нервной системы или с инфекционным заболеванием. Согласно конкретному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), который(ая/ое) связывает NKGD2 и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из:

FSLFCYNVHGWECFPVY (NKG1; SEQ ID NO:4500);
 SLTWCMVEKLHYWVICDRVA (NKG4; SEQ ID NO:4501);
 ILISCQEQWPVFQCYAVR (NKG7; SEQ ID NO:4502); HEEDCYWILYQHCPRAT
 (NKG9; SEQ ID NO:4503); LEHLCTTYPWFHCPEGA (NKG12 SEQ ID NO:4504);
 SGLVCFSRFDWWECVWTS (NKG14; SEQ ID NO:4505);
 SLTRSRYQRFHYWVICDRVA (NKG15; SEQ ID NO:4506); и YTVACYYGVDQY
 WMCFSNS (NKG17; SEQ ID NO:4507).

Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию, конкурирующую за связывание NKGD2 с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 4500-4506 и 4507. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело) с MRD-содержащим антителом, который(ая) связывается с тем же эпитопом NKGD2, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 4500-4506 и 4507.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение содержит MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), который(ая) связывает CD319 (CRACC) и содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из:

WRLDCWENHEWDFWCWANG (SEQ ID NO:4508); SLYECWRVVFVSFPRCPDGS
 (SEQ ID NO:4509); LYLLCEHVHDKHWECSWL (SEQ ID NO:4510);
 IHLRCTYVEPLYML CSPYA (SEQ ID NO:4511); TMMVECYMGYCYPTVF (SEQ ID
 NO:4512); VLLRCQYVGV SHICKSVD (SEQ ID NO:4513);
 LVLECFIDAWYMKCHTTG (SEQ ID NO:4514); LRL YCIPVDHTFFKCTLYG (SEQ
 ID NO:4515); YCIYRCQVQCWMFPA (SEQ ID NO:4516);
 WHIACWEMRDVHWYVCEFFV (SEQ ID NO:4517); RVLQCKWVSSEYFQCSETS
 (SEQ ID NO:4518); VVVECFQVKEMYWSCRAV (SEQ ID NO:4519); и
 YLMYCTALEYPYF QCRQMV (SEQ ID NO:4520).

Согласно еще одному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или MRD-содержащее антитело, конкурирующее(ий) за связывание CRACC с полипептидом, содержащим последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: последовательностей SEQ ID NO: 4508-4519 и 4520. Согласно дополнительному варианту реализации настоящее изобретение охватывает MRD и/или мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), который(ая) связывается с тем же эпитопом CRACC, что и полипептид, имеющий последовательность аминокислот, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 4508-4519 и 4520.

Согласно конкретным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD2. В соответствии с одним вариантом реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает человека CD2. Согласно конкретному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает белок CD2 человека, имеющий последовательность аминокислот 25-209, приведенную в референсной последовательности NCBI № NP_001758. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания CD2. Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой MRD. Согласно другим вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой антигенсвязывающий домен антитела. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания CD2. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции с CD2 не возбуждает сигнал на клетке, на которой экспрессируется CD2. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD2 и 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество других мишеней (например, опухолевый антиген согласно описанию в настоящем документе или известный в данной области техники). Согласно конкретным вариантам реализации связывающие CD2 композиции, предложенные в настоящем изобретении, не являются одноцепочечными антителами.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает CD2 человека и ортолог CD2 из другого организма. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD2 человека и ортолог CD2 другого

примата. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD2 человека и ортолог CD2 яванского макака или макака-резуса. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает мишень на миелоидной клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает:

(1) мишень на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке) и

(2) мишень на иммунной вспомогательной клетке (например, миелоидной клетке), с тем чтобы сблизить миелоидные клетки с клеткой, тканью или инфекционным агентом, представляющим(ей) интерес.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит несколько сайтов связывания мишени (т.е. мультивалентно связывает мишень) на миелоидной клетке. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывает мишень) на вспомогательной клетке (например, миелоидной клетке). Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой MRD. Согласно другим вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой антигенсвязывающий домен антитела. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции не возбуждает сигнал при связывании указанной композицией мишени на миелоидной клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает рецептор Fc-гамма, выбранный из CD16 (т.е. рецептора Fc-гамма-II), CD64 (т.е. рецептора Fc-гамма) и CD32 (т.е. рецептора Fc-гамма-I). Согласно конкретным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает CD64 (т.е. рецептор Fc-гамма). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает мишень, выбранную из MHC класса 2 и его инвариантной цепи, TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 и TLR6. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 2, 3, 4 или 5 мишеней на клетке, ткани или инфекционном агенте, представляющем(ей) интерес. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции расположены на поверхности клетки. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, представляют собой опухолевый антиген (например, опухолевые антигены и опухолеассоциированные/ассоциированные с раком антигены). Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством иммунной системы. Согласно дополнительным вариантам реализации 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество мишеней, связываемых указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией, связаны с заболеванием или расстройством скелетной системы (например, остеопорозом), сердечно-сосудистой системы, нервной системы, или с инфекционным заболеванием. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает представляющую интерес мишень на раковой клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает представляющую интерес мишень на иммунной клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает представляющую интерес мишень на пораженной заболеванием клетке. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает представляющую интерес мишень на инфекционном агенте (например, бактериальной клетке или вирусе). Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение охватывает способ лечения заболевания или расстройства путем введения нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, предложенной в настоящем изобретении. Конкретные варианты реализации относятся к способу лечения заболевания или расстройства путем введения нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), которая содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывающей мишень). Согласно некоторым вариантам реализации указанная вводимая мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная вводимая мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците, таком как Т-клетка

(например, CD3) и несколько сайтов связывания мишени (т.е. способна к мультивалентному связыванию), расположенной на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолевого антигена на опухолевой клетке).

Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения пациенту терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), которая содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. моновалентно связывающей мишень) и несколько сайтов связывания 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней. Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), которая содержит единственный сайт связывания CD3 (например, CD3-эпсилон), моновалентно связывающий CD3, и несколько сайтов связывания 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества других мишеней.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный опухолевая клетка относится к раковому заболеванию, выбранному из рака молочной железы, рака толстой и прямой кишки, рака эндометрия, рака почки (почечно-клеточного рака), рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, лейкоза, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака поджелудочной железы и рака щитовидной железы. Согласно некоторым вариантам реализации домен(ы) MRD и антитело в MRD-содержащем антителе представляют собой антагонисты соответствующих им мишеней. Согласно другим вариантам реализации домен(ы) MRD и антитело в MRD-содержащем антителе представляют собой агонисты соответствующей им мишени. Согласно другим вариантам реализации по меньшей мере один из доменов MRD в MRD-содержащем антителе представляет собой антагонист соответствующей им целевой молекулы, а антитело представляет собой агонист соответствующей им целевой молекулы. Согласно еще одному варианту реализации по меньшей мере один из доменов MRD в MRD-содержащем антителе представляет собой агонист соответствующей им целевой молекулы, а антитело представляет собой антагонист соответствующей им целевой молекулы.

Согласно некоторым вариантам реализации и домен(ы) MRD, и антитело в MRD-содержащем антителе связываются с растворимыми факторами. Согласно некоторым вариантам реализации и домен(ы) MRD, и антитело в MRD-содержащем антителе связываются с молекулами клеточной поверхности. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один MRD в MRD-содержащем антителе связывается с молекулой клеточной поверхности, а антитело в MRD-содержащем антителе связывается с растворимым фактором. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один MRD в MRD-содержащем антителе связывается с растворимым фактором, а антитело в MRD-содержащем антителе связывается с молекулой клеточной поверхности.

Усовершенствованная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело), которая специфически связывает требуемую мишень или мишени, может также быть получен на основе ранее известных MRD или мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела).

Например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10-20, 20-30, 30-50, 50-100, 100-150 или более 150 замен, удалений или вставок аминокислот могут быть введены в последовательность MRD или мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащее антитело), и может быть проведен скрининг полученного(ой) MRD или мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) за связывание с требуемой мишенью или мишенями, для антагонизирования активности мишени или агонизирования активности мишени согласно описанию в примерах или с применением техник, известных в данной области техники.

Дополнительные пептидные последовательности могут быть добавлены, например, для усиления стабильности MRD *in vivo* или сродства MRD в отношении его мишени.

Согласно определенным вариантам реализации связывание мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащее антитело) с ее мишенью (например, клеткой) усиливается по сравнению со связыванием MRD по отдельности, антитела по отдельности и/или комбинации MRD и антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанное связывание усиливается по меньшей мере приблизительно в 2 раза, по меньшей мере приблизительно в 5 раз, по меньшей мере приблизительно в 10 раз, по меньшей мере приблизительно в 20 раз, по меньшей мере приблизительно в 50 раз, по меньшей мере приблизительно в 75 раз, по меньшей мере приблизительно в 100 раз, по меньшей мере приблизительно в 500 раз или по меньшей мере приблизительно в 1000 раз.

Кроме того, согласно некоторым вариантам реализации связывание мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащее антитело) с мишенью (например, клеткой или молекулой, содержащей несколько эпитопов), экспрессирующей и мишень MRD, и мишень антитела, усиливается по сравнению со связыванием указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) с мишенью (например, клеткой или молекулой, содержащей несколько эпитопов), экспрессирующей только мишень MRD или

только мишень антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанное связывание усиливается по меньшей мере приблизительно в 2 раз, по меньшей мере приблизительно в 5 раз, по меньшей мере приблизительно в 10 раз, по меньшей мере приблизительно в 20 раз, по меньшей мере приблизительно в 50 раз, по меньшей мере приблизительно в 75 раз, по меньшей мере приблизительно в 100 раз, по меньшей мере приблизительно в 500 раз или по меньшей мере приблизительно в 1000 раз. Указанная повышенная avidность может обеспечивать связывание мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) с мишенями, нацеливание на которые ранее представляло трудности, например, связанные с G-белком рецепторы и молекулы углеводов.

Кроме того, согласно некоторым вариантам реализации связывание мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащее антитело) с мишенью MRD усиливается в области (например, организма), где локализована мишень антитела, по сравнению с областью, где мишень антитела не экспрессируется или экспрессируется на более низком уровне. Согласно некоторым вариантам реализации связывание мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) с мишенью антитела усиливается в области (например, организма), где локализована мишень MRD, по сравнению с областью, где мишень MRD не экспрессируется или экспрессируется на более низком уровне. Согласно некоторым вариантам реализации указанное связывание усиливается по меньшей мере приблизительно в 2 раза, по меньшей мере приблизительно в 5 раз, по меньшей мере приблизительно в 10 раз, по меньшей мере приблизительно в 20 раз, по меньшей мере приблизительно в 50 раз, по меньшей мере приблизительно в 75 раз, по меньшей мере приблизительно в 100 раз, по меньшей мере приблизительно в 500 раз или по меньшей мере приблизительно в 1000 раз.

Согласно предпочтительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) сохраняет специфическую активность исходного антитела. Соответственно, согласно определенным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) способна индуцировать комплементзависимую цитотоксичность. Согласно определенным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) способна индуцировать антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (АЗКЦ). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) способна индуцировать апоптоз. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) способна уменьшать объем опухоли. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) способны ингибировать рост опухоли.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) демонстрирует повышенную активность или фармакодинамические свойства по сравнению с соответствующим антителом без присоединенного MRD. Соответственно, согласно определенным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) обладает большей avidностью, чем соответствующее антитело без присоединенного MRD. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) приводит к повышенной агрегации рецепторов по сравнению с соответствующим антителом без присоединенного MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) действует как антагонист активности мишени в более выраженной степени, чем соответствующее антитело без присоединенного MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) действует как агонист активности мишени в более выраженной степени, чем соответствующее антитело без присоединенного MRD. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) имеет улучшенный профиль фармакодинамики по сравнению с соответствующим антителом без присоединенного MRD.

Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело обладает большей терапевтической эффективностью, чем соответствующее антитело без присоединенного MRD.

Согласно другим вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) оказывают один или большее количество следующих эффектов: ингибируют пролиферацию опухолевых клеток, уменьшают онкогенность опухоли, ингибируют рост опухоли, повышают выживаемость пациентов, запускают клеточную смерть опухолевых клеток, обеспечивают дифференцировку опухолеобразующих клеток в неонкогенное состояние или предотвращают метастазы опухолевых клеток.

Согласно определенным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) способна индуцировать апоптоз.

тиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) по меньшей мере настолько же стабильна, как и соответствующее антитело без присоединенного MRD. Согласно определенным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) более стабильна, чем соответствующее антитело без присоединенного MRD. Стабильность MRD-антитела может быть измерена с применением способов, известных специалистам в данной области техники, включая, например, техники ИФА ELISA. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) стабильно в цельной крови при 37°C на протяжении по меньшей мере приблизительно 10 ч, по меньшей мере приблизительно 15 ч, по меньшей мере приблизительно 20 ч, по меньшей мере приблизительно 24 ч, по меньшей мере приблизительно 25 ч, по меньшей мере приблизительно 30 ч, по меньшей мере приблизительно 35 ч, по меньшей мере приблизительно 40 ч, по меньшей мере приблизительно 45 ч, по меньшей мере приблизительно 48 ч, по меньшей мере приблизительно 50 ч, по меньшей мере приблизительно 55 ч, по меньшей мере приблизительно 60 ч, по меньшей мере приблизительно 65 ч, по меньшей мере приблизительно 70 ч, по меньшей мере приблизительно 72 часов, по меньшей мере приблизительно 75 ч, по меньшей мере приблизительно 80 ч, по меньшей мере приблизительно 85 ч, по меньшей мере приблизительно 90 ч, по меньшей мере приблизительно 95 ч или по меньшей мере приблизительно 100 ч.

Согласно определенным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) обладает по меньшей мере таким же сродством к Fc-рецепторам, что и соответствующее исходное антитело. Согласно другим неисключительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) обладает по меньшей мере таким же сродством к рецепторам комплемента, что и соответствующее исходное антитело. Согласно другим неисключительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) имеет по меньшей мере такой же период полувыведения, что и соответствующее исходное антитело. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) может экспрессироваться на уровнях, соизмеримых с уровнями экспрессии соответствующего исходного антитела.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) обладает повышенным сродством к Fc-рецепторам по сравнению с соответствующим исходным антителом. Согласно другим неисключительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) обладает повышенным сродством к рецепторам комплемента по сравнению с соответствующим исходным антителом. Согласно другим неисключительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) имеет увеличенный период полувыведения по сравнению с соответствующим исходным антителом. Согласно другим вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) может экспрессироваться на уровнях, повышенных по сравнению с уровнями экспрессии соответствующего исходного антитела.

Иммуноконъюгаты (конъюгаты MRD-содержащего антитела с лекарственными средствами)

Применение конъюгатов антител с лекарственными средствами для местной доставки цитотоксических агентов обеспечивает направленную доставку лекарственного средства в опухоли и внутриклеточную аккумуляцию в опухолях, в случаях, когда системное введение указанных неконъюгированных лекарственных агентов может приводить к неприемлемым уровням токсичности не только для опухолевых клеток, которые требуется элиминировать, но и для нормальных клеток (Baldwin et al., *Lancet*, стр. 603-05 (1986); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", в "Monoclonal Antibodies'84: Biological And Clinical Applications", A. Pinchera et al. (ed.s), p. 475-506 (1985)).

Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение включает мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело), ковалентно или иным образом связанную с цитотоксическим агентом (нагрузкой) (т.е. в виде комплексов мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции и цитотоксического агента (например, комплексов MRD-содержащего антитела и цитотоксического агента). Согласно некоторым вариантам реализации указанный цитотоксический агент ковалентно связан с мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащим антителом), посредством линкера. Согласно некоторым вариантам реализации указанный линкер, соединяющий мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию с цитотоксическим агентом, может быть расщеплен протеазой. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный цитотоксический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибирующий рост агент, токсин (например, ферментативно активный токсин бактериального, грибного, растительного или животного происхождения, или его фрагменты), радиоактивный изотоп (т.е. радиоконъюгат) или пролекарство. Способы применения

иммуноконъюгатов (конъюгатов MRD-содержащего антитела с лекарственными средствами) также охвачены настоящим изобретением.

Цитотоксические агенты, которые могут быть ковалентно или иным образом связаны с мультивалентными и мультиспецифическими композициями (например, MRD-содержащим антителом), включают, не ограничиваясь указанным, любой агент, неблагоприятный для клеток (например, убивающий клетки). Цитотоксины, подходящие для композиций и способов согласно настоящему изобретению, включают, наряду с прочими, алкилирующие агенты, интеркалирующие агенты, антипролиферативные агенты, антимиотические агенты, связывающие тубулин агенты, алкалоиды барвинка, ендины, трихотечены, подофиллотоксины или производные подофиллотоксинов, лекарственные средства семейства птеридинов, таксаны, антрациклины (например, даунорубин (ранее дауномицин) и доксорубин), антибиотики (например, дактиномицин (ранее актиномицин, доластатины (например, доластатин 10, доластатин 11 и доластатин 15)), ингибиторы топоизомеразы и химиотерапевтические агенты с комплексами платины (например, цисплатин).

Согласно некоторым вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат цитотоксический агент, который представляет собой деполимеризующий тубулин агент. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат ауристатин или производное или аналог ауристатина. Согласно одному варианту реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат монометил ауристатин E (MMAE). Согласно еще одному варианту реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат монометил ауристатин F (MMAF). Согласно дополнительным вариантам реализации композиции с иммуноконъюгатом, предложенная в настоящем изобретении, содержит доластатин или пептидный аналог или производное доластатина, например, ауристатин (см., например, патенты США № 5635483, 5780588 и 5663149).

Согласно дополнительным вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат молекулу майтансиноида. Майтансиноиды представляют собой ингибиторы митоза, действующие за счет ингибирования полимеризации тубулина. Способы получения майтансиноидов и их терапевтическое применение раскрыты, например, в патентах США № 5208020; 5416064, 6441163 и европейском патенте EP0425235B1, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанный цитотоксин представляет собой майтансиноид, производное или аналог майтансиноида. Фрагменты майтансиноидных лекарственных средств представляют собой привлекательные лекарственные фрагменты для конъюгатов антител с лекарственными средствами, поскольку они:

- (i) относительно доступны для получения путем ферментации или химической модификации, или дериватизации продуктов ферментации,
- (ii) поддаются дериватизации функциональными группами, подходящими для конъюгации с антителами посредством не-дисульфидных линкеров,
- (iii) стабильны в плазме, и
- (iv) эффективны против клеток разнообразных опухолевых линий.

Соединения майтансина, подходящие для применения в качестве фрагментов майтансиноидных лекарственных средств, хорошо известны в данной области техники и могут быть выделены из природных источников в соответствии с известными способами, получены с применением техник генной инженерии (см. Yu et al., PNAS 99:7968-7973 (2002)); либо майтансинол и аналоги майтансинола могут быть получены синтетически в соответствии с известными способами.

Согласно конкретным вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, включают майтансиноид DM1 (N(2')-деацетил-N(2')-(3-меркапто-1-оксопропил)майтансин). Согласно другим конкретным вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, включают майтансиноид DM2. Согласно дополнительным вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, включают майтансиноид DM3 (N(2')-деацетил-N2-(4-меркапто-1-оксопентил)майтансин) или DM4 (N(2')-деацетил-N2-(4-меркапто-4-метил-1-оксопентил)майтансин).

Согласно некоторым вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, включают цитотоксический агент, который представляет собой алкилирующий агент. Согласно конкретным вариантам реализации указанный цитотоксический агент выбран из мехлоретамин, тиотепы, тиотепы хлорамбуцила, мелфалана, кармустина (BSNU), BCNU, ломустина (CCNU), циклофосфамида, бусульфана, дибромманнитола и стрептозоцина.

Согласно другим вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, включают цитотоксический агент, который представляет собой антимиотический агент. Согласно конкретным вариантам реализации указанный цитотоксический агент выбран из метотрексата, дихлорметотрексата, 6-меркаптопурина, 6-тиогуанина, цитарабина, 5-фторурацила и 5-фторурацила декарбазина.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанный конъюгат мультивалентной и мультиспецифической композиции и лекарственного средства (например, конъюгат MRD-содержащего антитела и лекарственного средства) способен обеспечивать двухцепочечные разрывы ДНК. Согласно допол-

нительным вариантам реализации указанный конъюгат MRD-содержащего антитела и лекарственного средства содержит антибиотик из семейства калихемициновых антибиотиков, способный производить двухцепочечные разрывы ДНК в субпикомолярных концентрациях. Согласно дополнительным вариантам реализации конъюгат мультивалентной и мультиспецифической композиции и лекарственного средства (например, конъюгат MRD-содержащего антитела и лекарственного средства) содержит калихемицин. Информацию о получении конъюгатов с представителями семейства калихемицинов, см. например, в патентах США № 5712374, 5714586, 5739116, 5767285, 5770701, 5770710, 5773001 и 5877296 (все патенты принадлежат American Cyanamid Company). Структурные аналоги калихемицина, которые могут содержаться в конъюгате мультивалентной и мультиспецифической композиции и лекарственного средства (например, конъюгате MRD-содержащего антитела и лекарственного средства) согласно настоящему изобретению, включают, не ограничиваясь перечисленными, гамма₁¹, альфа₂¹, альфа₃¹, N-ацетил-гамма₁¹, PSAG и тэта₁¹ (Hinman et al., *Cancer Research* 53:3336-3342 (1993), и Lode et al., *Cancer Research* 58:2925-2928 (1998).

Согласно другим вариантам реализации композиции с конъюгатом мультивалентной и мультиспецифической композиции и лекарственного средства (например, конъюгат MRD-содержащего антитела и лекарственного средства), предложенные в настоящем изобретении, включают цитотоксический агент, выбранный из адриамицина, доксорубина, митомицина С, бусульфана, цитоксина, хлорамбуцила, этопозида, этопозида фосфата, CC-1065, дуокармина, KW-2189, CC1065, таксотера (доцетаксела), метоптерина, аминоптерина, топотекана, камптотецина, порфирамицина, блеомицина, тенипозида, эсперамицинов, митрамицина, антрамицина (АМС), флударабина, тамоксифена, таксотера (доцетаксела), цитозинарабинозида (Ага-С), аденозинарабинозида, цисплатина, карбоплатина, цис-дихлор-диаминоплатины (II) (DDP), цисплатина, хлорохина, циклоспорина А, доцетаксела, паклитаксела, таксола, винорелбина, виндезина, цитохалазина В, грамицидина D, этидия бромида, эметина, митомицина, ифосфамида, циклофосфамида, тенопозида, карминомицина, порфирамицина, дигидроксиантрацендиона, митоксантрона, митрамицина, дактиномицина, актиномицина D, пуромицина 1-дегидротестостерона, адриамицина, глюкокортикоидов, прокаина, тетракаина, лидокаина, пропранолола, эпотилона, QFA, комбретастина, комбретастина А4 фосфата, винбластин, винкристина, колхицина, гелданамицина, доксорубина, хлорамбуцила, фенилендиамин ауристатина F (АФР)), монометилауристатина, представителей семейства агентов, известных в совокупности как комплекс LL-E33288, описанный в патентах США № 5053394, 5770710, а также эсперамицинов (патент США № 5877296) или их производного или аналога; а также их производных и аналогов. Дополнительные подходящие токсины и химиотерапевтические агенты описаны в источниках: Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Ed. (Mack Publishing Co. 1995), а также Goodman and Gilman, "The Pharmacological Basis of Therapeutics", 7th Ed. (MacMillan Publishing Co. 1985). Кроме того, дополнительную информацию о типах цитотоксинов, линкеров и других способах, которые могут использоваться или быть рутинным образом адаптированы для конъюгирования с терапевтическими агентами с комплексом MRD-содержащего антитела, можно найти, например, в опубликованных международных заявках WO2007/059404; Saito et al., *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55:199-215 (2003); Trail et al., *Cancer Immunol Immunother.* 52:328-337 (2003); Payne, *Cancer Cell* 3:207-212 (2003); Allen, *Nat. Rev. Cancer* 2:750-763(2002); Pastan et al., *Curr. Opin. Investig. Drugs* 3:1089-1091 (2002); и Senter et al., *Adv. Drug Deliv. Rev.* 53:247-264 (2001); каждый из указанных источников полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Цитотоксические химиотерапевтические агенты, которые могут применяться с иммуноконъюгатами согласно настоящему изобретению (например, конъюгатах мультивалентных и мультиспецифических композиций с лекарственными средствами, таких как конъюгаты MRD-содержащего антитела с лекарственными средствами), включают ядовитые лектины и растительные или другие токсины (например, рицин, абрин, модессин, ботулиновый и дифтерийный токсины). Предполагается, что несколько копий токсина или комбинации различных токсинов могут, необязательно, быть соединены с мультиспецифической и мультивалентной композицией, предложенной в настоящем изобретении (например, MRD-содержащим антителом), с обеспечением таким образом дополнительной цитотоксичности. Ферментативно активные токсины и их фрагменты которые могут применяться в композициях, предложенных в настоящем изобретении, включают, не ограничиваясь перечисленными, А-цепь дифтерийного токсина, несвязывающие активные фрагменты дифтерийного токсина, А-цепь экзотоксина (*Pseudomonas aeruginosa*), экзотоксин *Pseudomonas*, эндотоксин *Pseudomonas*, А-цепь рицина, А-цепь абрина, А-цепь модессина, альфа-сарцин, белки *Aleurites fordii*, рибонуклеазу, ДНКазу I, стафилококковый энтеротоксин-А, диантиновые белки, белки *Phytolacca americana* (PAPI, PAPII и PAP-S), ингибитор *Momordica charantia*, курцин, кротин, ингибитор *Saponaria officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, эномицин и трихотецены. См., например, Pastan et al., *Cell* 47:641 (1986), Goldenberg et al., *Cancer Journal for Clinicians* 44:43 (1994) и опубликованные международные заявки № WO93/21232 и WO93/21232; каждый из указанных источников полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Как правило, фрагменты лекарственных средств на основе пептидов могут быть получены путем образования пептидной связи между двумя или большим количеством аминокислот и/или пептидных фрагментов. Такие пептидные связи могут быть получены, например, в соответствии с методом жидкофазного синтеза (см.

E. Schroder и K. Lubke, "The Peptides", volume 1, pp. 76-136, 1965, Academic Press), хорошо известным в области химии пептидов.

Ауристатиновые/доластатиновые фрагменты лекарственных средств могут быть получены в соответствии со способами согласно: патентам США № 5635483 и 5780588; Pettit et al., J. Am. Chem. Soc. 111:5463-5465 (1989); Pettit et al., Anti-Cancer Drug Design 13:243-277 (1998); Pettit et al., Synthesis 719-725 (1996); Pettit et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 15:859-863 (1996); и Doronina et al., Nat. Biotechnol 21(7):778-784 (2003).

Согласно некоторым вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат высокорadioактивный атом. Доступны разнообразные радиоактивные изотопы для получения радиоконъюгатов с мультивалентными и мультиспецифическими композициями (например, MRD-содержащими антителами). Примеры включают At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} и радиоактивные изотопы Lu. Если конъюгат применяется для детекции, он может содержать радиоактивный атом для сцинтиграфических исследований, например технеций-99 (tc^{99m}) или I^{123} , или спиновую метку для визуализации с помощью ядерного магнитного резонанса (ЯМР) (также известной как магнитная резонансная томография, МРТ), такую как, опять же, йод-123, йод-131, индий-111, фтор-19, углерод-13, азот-15, кислород-17, гадолиний, марганец или железо.

Радиоактивные или другие метки могут быть включены в конъюгат с применением известных в данной области техники техник. Например, пептид может быть синтезирован биологически или путем химического аминокислотного синтеза с применением подходящих предшественников аминокислот, с включением, например, фтора-19 вместо водорода. Метки, такие как технеций-99 (tc^{99m}) или I^{123} , Re^{186} , Re^{188} и In^{111} могут быть присоединены к пептиду через остаток цистеина. Иттрий-90 может быть присоединен через остаток лизина. Метод IODOGEN (Fraker et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 80: 49-57 (1978)) может применяться для включения йода-123. В источнике "Моноклональные антитела в иммуносцинтиграфии" ("Monoclonal Antibodies in Immunosciintigraphy", Chatal, CRC Press 1989) подробно описаны другие способы, которые могут рутинным образом применяться для мечения композиций, предложенных в настоящем изобретении. Линкер может представлять собой "расщепляемый линкер", облегчающий высвобождение лекарственного средства в клетке. Например, может применяться кислотолabile линкер (например, гидразон), чувствительный к протеазе (например, чувствительный к пептидазе) линкер, фотолabile линкер, диметильный линкер или дисульфид-содержащий линкер (Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992); патент США № 5208020, опубликованная заявка на патент США №20110293513). Соответственно, настоящее изобретение охватывает мультивалентные и мультиспецифические композиции, содержащие один или большее количество линкеров, которые могут содержать в качестве части цепи любые из разнообразных групп, расщепляющихся *in vivo*, например, в клетке, со скоростью, повышенной относительно скорости расщепления конструкций, в которых отсутствуют такие группы. Также предложены конъюгаты линкерных фрагментов с терапевтическими и диагностическими агентами. Указанные линкеры подходят для получения аналогов пролекарственных терапевтических агентов и для обратимого связывания терапевтического или диагностического агента (например, цитотоксина или MRD) с агентом для нацеливания, детектируемой меткой или твердой подложкой. Указанные линкеры могут быть стабильными в плазме, не высвобождая MRD или цитотоксический агент. В случае цитотоксинов линкеры могут быть стабильными в плазме и лабильными при интернализации для высвобождения цитотоксина в активной форме.

Домены MRD и/или цитотоксические агенты, необязательно, соединены друг с другом или с мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащим антителом) согласно настоящему изобретению линкером согласно описанию в настоящем документе или известным из других источников в данной области техники. Конъюгаты MRD-содержащего антитела с MRD или цитотоксическим агентом могут быть получены с применением различных бифункциональных связывающих белки агентов, известных в данной области техники, включая, но не ограничиваясь перечисленными, связывающие агенты, содержащие группу, выбранную из: 6-малеимидокапроила (MC), малеимидокапроил-полиэтиленгликоля ("MC(PEG)6-OH" (подходит для присоединения к цистеинам антитела)), малеимидопропаноила (MP), MPBH, валин-цитруллина (val-cit (пример дипептида в расщепляемом протеазой линкере)), метил-валин-цитруллина ("Me-Val-CitN", линкера, в котором пептидная связь была модифицирована для предотвращения расщепления катепсином B) аланин-фенилаланина (ala-phe), p-аминобензилоксикарбонила (PAB (пример "саморасщепляющегося" линкерного компонента)), валин-цитруллин-p-аминобензилоксикарбонила ("vc-PAB"), N-сукцинимидил-4-(2-пиридилтио) пентаноата (SPP), N-сукцинимидил 4-(N-малеимидометил) циклогексан-1 карбоксилата (SMCC), LC-SMCC, N-сукцинимидил(4-йод-ацетил)аминобензоата (SIAB), IT (иминотиолана), SPDP (N-сукцинимидил-3-(2-пиридилтио)пропионата), 6-малеимидокапроил-валин-цитруллин-p-аминобензилоксикарбонила (MC-vc-PAB), этиленокси-CH₂CH₂O- в виде одной или большего количества повторяющихся единиц ("EO" или "PEO"), BMPS (сложного эфира N-β-малеимидопропил-оксисукцинимид), EMCS (сложного эфира N-ε-малеимидокапроил-оксисукцинимид), GMBS (сложного эфира N-γ-малеимидобутирил-оксисукцинимид), HBVS (винилсульфона), MBS (сложного эфира m-малеимидобензоил-N-

гидроксисукцинимид), SBAP (сукцинимидил-3-(бромацетиамидо)пропионата), SIA (сукцинимидилйод-ацетата), SMPB (сукцинимидил-4-(п-малеимидофенил)бутирата), SMPH (сукцинимидил-6-(β-малеимидопропионамидо)-гексаноата), сульфо-EMCS (сложного эфира N-ε-малеимидокапроил-оксисукцинимид) (сложного эфира N-ε-малеимидо-капроил-оксисульфосукцинимид), сульфо-GMBS (сложного эфира N-γ-малеимидобутирил-оксисульфосукцинимид), сульфо-KMUS (сложного эфира N-[каппа-малеимидоундеканоилокси]сульфосукцинимид), сульфо-MBS (сложного эфира м-малеимидобензоил-N-гидроксисульфосукцинимид), сульфо-SMCC (сульфосукцинимидил-4-[N-малеимидометил]циклогексан-1-карбоксилата), сульфо-SIAB (сульфосукцинимидил(4-иодацетил)аминобензоата), сульфо-SMPB (сукцинимидил-4-(п-малеимидофенил)бутирата) (сульфосукцинимидил-4-(N-малеимидофенил)бутирата), SVSB (сукцинимидил-(4-винилсульфон)бензоата), бифункциональные производные сложных имидоэфиров (такие как диметиладипимидат HCl), активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидилсуберат), альдегиды (такие как глутаральдегид), бис-азидосоединения (такие как бис-(р-азидобензоил)гександиамин), производные бис-дiazония (такие как бис-(р-дiazонийбензоил)-этилендиамин), диизоцианаты (такие как толуол-2,6-диизоцианат) и бис-активные соединения фтора (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол). Дополнительные линкерные компоненты известны в данной области техники и некоторые из них описаны в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция ковалентно связана с цитотоксическим агентом посредством линкера в 1-5, 5-10, 1-10 или 1-20 сайтах на мультивалентной и мультиспецифической композиции. В соответствии с дополнительными вариантами реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция ковалентно связана с цитотоксическим агентом посредством линкера более чем в 2, 5 или 10 сайтах на мультивалентной и мультиспецифической композиции.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс с мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией (например, MRD-содержащее антитело) связан с пролекарством. Синтез пролекарства, химическое связывание с антителами и фармакодинамические свойства известны в данной области техники и могут рутинным образом использоваться для получения и применения предложенных в настоящем изобретении мультивалентных и мультивалентных композиций, которые содержат пролекарства, например, композиций с MRD-содержащим антителом и пролекарством. См., например, межд. публ. №WO96/05863 и патент США № 5962216, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

Как вариант, гибридный белок, содержащий антитело и цитотоксический агент, может быть получен, например, с применением рекомбинантных техник или пептидного синтеза. Молекула рекомбинантной ДНК может содержать области, кодирующие антитело и цитотоксические фрагменты конъюгата, смежные друг с другом или разделенные областью, кодирующей линкерный пептид, не устраняющий требуемые свойства конъюгата.

Мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело), предложенная в настоящем изобретении, также может быть конъюгирована с радиоактивным изотопом для получения цитотоксических радиофармацевтических средств, также называемые радиоиммуноконъюгатами. Примеры радиоактивных изотопов, которые могут быть конъюгированы с мультивалентными и моновалентными мультиспецифическими композициями (например, MRD-содержащими антителами) для диагностического или терапевтического применения, включают, не ограничиваясь перечисленными, иод¹³¹, индий¹¹¹, иттрий⁹⁰ и лютеций¹⁷⁷. В данной области техники установлены способы получения радиоиммуноконъюгатов. Примеры радиоиммуноконъюгатов коммерчески доступны, включая ZevalinTM (IDEC Pharmaceuticals) и BexxarTM (Corixa Pharmaceuticals); аналогичные способы могут применяться для получения радиоиммуноконъюгатов с применением MRD-содержащих антител согласно настоящему изобретению.

Способы конъюгации линкерных фрагментов с лекарственным средством и нацеленными на клетки белками, такими как антитела, известны в данной области техники и включают описанные, например, в патентах США №5208020 и 6441163; опубликованные международные заявки № WO2005037992, WO2005081711 и WO2006/034488, каждая(ый) из которых полностью включен(а) в настоящий документ посредством ссылки. См., также например, источники: Arnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", в Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", в Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Saito et al., Adv. Drug Deliv. Rev. 55:199-215 (2003); Trail et al., Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337 (2003); Payne, Cancer Cell 3:207-212 (2003); Allen et al., Nat. Rev. Cancer 2:750-763 (2002); Pastan et al., Curr. Opin. Investig. Drugs 3:1089-1091 (2002); и Senter et al., Adv. Drug Deliv. Rev. 53:247-264 (2001), содержание каждого из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. Согласно некоторым вариантам реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция, предложенная в настоящем изобретении, содержит цитотоксический агент (например, конъюгат MRD-содержащее антитело-цитотоксический агент) и может в общем случае называться в настоящем документе иммуноконъюгатом.

Согласно некоторым вариантам реализации иммуноконъюгат согласно настоящему изобретению связывает мишень на клеточной поверхности, которая интернализуется клеткой. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание иммуноконъюгата согласно настоящему изобретению (например, конъюгата MRD-содержащего антитела и цитотоксического агента) с мишенью на клеточной поверхности приводит к интернализации иммуноконъюгата клеткой *in vitro*. Согласно дополнительным вариантам реализации связывание иммуноконъюгата с мишенью на клеточной поверхности приводит к интернализации композиции клеткой *in vivo*. Способы лечения пациента, описанные в настоящем документе, могут включать: введение пациенту терапевтически эффективного количества иммуноконъюгата (например, предложенной в настоящем изобретении мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, содержащей цитотоксический агент, например, конъюгата MRD-содержащего антитела и цитотоксического агента), который содержит цитотоксический агент и связывает мишень, которая интернализуется клеткой. Согласно некоторым вариантам реализации указанный иммуноконъюгат содержит цитотоксический агент, раскрытый в настоящем документе. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный иммуноконъюгат содержит цитотоксический агент, выбранный из алкилирующего агента, антипролиферативного агента, связывающего тубулин агента, алкалоида барвинка, енедиина, подофиллотоксина, производного подофиллотоксина, представителя семейства птеридиновых лекарственных средств, таксана, доластатина, ингибитора топоизомеразы, или химиотерапевтического агента с комплексом платины. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный цитотоксический агент представляет собой майтансиноид, производное или аналог майтансиноида. Согласно конкретным вариантам реализации указанный цитотоксический агент представляет собой майтансиноид DM1, DM2 или DM3. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный цитотоксический агент представляет собой ауристатин или производное или аналог ауристатина. Согласно конкретным вариантам реализации указанный цитотоксический агент представляет собой MMAE или MMAF. Указанные цитотоксические агенты, необязательно, присоединен к другим компонентам иммуноконъюгата посредством линкера. Согласно некоторым вариантам реализации указанный цитотоксический агент присоединен к другим компонентам иммуноконъюгата посредством ферментативно расщепляемого линкера. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный цитотоксический агент присоединен к другим компонентам иммуноконъюгата посредством кислотолabile линкера.

Согласно дополнительным вариантам реализации активность несвязанного цитотоксического агента иммуноконъюгата согласно настоящему изобретению составляет менее 10^{-7} M, 10^{-8} M или 10^{-9} M. Согласно дополнительным вариантам реализации активность несвязанного цитотоксина составляет от 10^{-8} до 10^{-11} M. Согласно некоторым вариантам реализации мишень, связываемая указанным иммуноконъюгатом, выбрана из CD19, CD22, CD30, CD33, CD56, CD70, CD79a, CD80, CD83, CD95, CD126, CD133, CD138, PCMA, EphA2, ErbB2 (CD340), SLC44A4, MN (карбоангидразы IX), GPNMB (гликопротеина неметастатической меланомы), Cripto и интегрин αV . Согласно дополнительным вариантам реализации мишень, связываемая указанным иммуноконъюгатом, выбрана из CD1, CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD8, CD11A, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD25, TNFRSF5 (CD40), CD64, CD74, CD79, CD105, CD174, CD205, CD227, CD326, CD340, муцина 16 (MUC16), эпителиального гликопротеина-1 (EGP-1), EGP-2, рецептора ЭФР (ErbB1), ErbB2, ErbB3, фактора H, FHL-1, Flt-3, рецептора фоллиевой кислоты, Ga 733, GROB, HMGB-1, индуцируемого гипоксией фактора (HIF), HM1.24, HER-2/neu, инсулиноподобного фактора роста (IGF), ИФН-гамма, ИФН-альфа, ИФН-бета, pИЛ-2, pИЛ-4, pИЛ-6, pИЛ-13, pИЛ-15, pИЛ-17, pИЛ-18, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-25, IP-10, pИФР-1, Ia, HM1.24, HCG, HLA-DR, ED-B, TMEFF2, EphB2, FAP (белка активации фибробластов), мезотелина, pЭФР, TAG-72, GD2 (кодируемого геном B4GALNT1) и 5T4.

Согласно дополнительным вариантам реализации мишень, связываемая указанным иммуноконъюгатом, представляет собой миелоидную и гематопозитическую мишень, выбранную из CD33, CD64, TNFRSF5 (CD40), CD56 и CD138. Согласно дополнительным вариантам реализации мишень, связываемая указанным иммуноконъюгатом, представляет собой мишень карциномы, выбранную из молекулы адгезии эпителиальных клеток (Epcam), GD2, pЭФР, CD74, CD227, CD340, муцина 16 (MUC16), GD2, GPNMB, PCMA, cripito, TMEFF2, EphB2, 5t4, мезотелина, TAG-72 и MN.

Согласно другим вариантам реализации мишень, связываемая указанным иммуноконъюгатом, представляет собой В-клеточную мишень, выбранную из CD19/CD21, CD20, CD22, TNFRSF5 (CD40), CD70, CD79a, CD79b и CD205. Согласно дополнительным вариантам реализации мишень, связываемая указанным иммуноконъюгатом, представляет собой Т-клеточную мишень, выбранную из CD25, CD30, TNFRSF5 (CD40), CD70 и CD205. Согласно дополнительным вариантам реализации связываемая мишень представляет собой мишень, выбранную из CD105 на эндотелиальных клетках, FAP на стромальных клетках и сосудистой мишени ED-B.

Согласно дополнительным вариантам реализации иммуноконъюгат согласно настоящему изобретению связывается с опухолевым антигеном клеточной поверхности и второй мишенью, которая связана с путем ускользания при устойчивости к химиотерапии. Согласно некоторым вариантам реализации указанный опухолевый антиген клеточной поверхности выбран из

pЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, pФРФ, pФРЭС-1, pФРЭС-2, pФРЭС-3, pТрФР-1, CD3, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD37, CD56, CD70, CD133, CD138, FOLR1, pИФР-1, Cripto, SLC44A4 и GCC.

Согласно дополнительным вариантам реализации иммуноконъюгат связывает Р-гликопротеин (кодируемый MDR1) и антиген клеточной поверхности. Согласно конкретным вариантам реализации указанный антиген клеточной поверхности представляет собой опухолевый антиген. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный опухолевый антиген выбран из:

pЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, pФРФ, pФРЭС-1, pФРЭС-2, pФРЭС-3, pТрФР-1, CD3, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD37, CD56, CD70, CD133, CD138, FOLR1, pИФР-1, Cripto, SLC44A4 и GCC.

Согласно конкретным вариантам реализации указанный иммуноконъюгат конкурирует за связывание CD30 с SGN-35 (брентуксимабом). Согласно дополнительным вариантам реализации указанный иммуноконъюгат конкурирует за связывание ErbB2 с трастузумабом.

Согласно дополнительным вариантам реализации иммуноконъюгат связывает MRP (ассоциированный с множественной лекарственной устойчивостью белок) и антиген клеточной поверхности. Согласно конкретным вариантам реализации указанный антиген клеточной поверхности представляет собой опухолевый антиген. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный опухолевый антиген выбран из:

pЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, pФРФ, pФРЭС-1, pФРЭС-2, pФРЭС-3, pТрФР-1, CD3, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD37, CD56, CD70, CD133, CD138, FOLR1, pИФР-1, Cripto, SLC44A4 и GCC.

Согласно конкретным вариантам реализации указанный иммуноконъюгат конкурирует за связывание CD30 с SGN-35 (брентуксимабом). Согласно дополнительным вариантам реализации указанный иммуноконъюгат конкурирует за связывание ErbB2 с трастузумабом. Как вариант, может быть получен гибридный белок, содержащий указанное антитело и цитотоксический агент, например, в помощью рекомбинантных техник или пептидного синтеза. Отрезок ДНК может содержать соответствующие области, кодирующие два фрагмента конъюгата, либо смежные, либо или разделенные областью, кодирующей линкерный пептид, не устраняющий нужные свойства указанного конъюгата.

Дополнительно предложены следующие варианты реализации для любых из описанных выше иммуноконъюгатов. Согласно одному варианту реализации иммуноконъюгат обладает киллинговой активностью в отношении клеток *in vitro* или *in vivo*. Согласно одному варианту реализации указанный линкер присоединен к антителу через тиольную группу антитела. Согласно одному варианту реализации указанный линкер может быть расщеплен протеазой. Согласно одному варианту реализации указанный линкер содержит дипептид валин-цитруллин. Согласно одному варианту реализации указанный линкер содержит п-аминобензильную единицу. Согласно одному варианту реализации указанная п-аминобензильная единица располагается между лекарственным средством и сайтом расщепления протеазой в линкере. Согласно одному варианту реализации указанная п-аминобензильная единица представляет собой п-аминобензилкарбонил (PAB). Согласно одному варианту реализации указанный линкер содержит 6-малеимидокапроил. Согласно одному варианту реализации указанный 6-малеимидокапроил располагается между антителом и сайтом расщепления протеазой в линкере. Перечисленные выше варианты реализации могут использоваться по отдельности или в любой комбинации друг с другом. MRD-содержащее антитело согласно настоящему изобретению может также быть конъюгировано с активирующим пролекарством ферментом, преобразующим пролекарство (например, пептидильный химиотерапевтический агент, см. например, WO81/01145) в активное противораковое лекарственное средство. См., например, WO88/07378 и патент США № 4975278, содержание которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. Ферментный компонент иммуноконъюгата предпочтительно способен воздействовать на пролекарство таким образом, чтобы оно преобразуется в более активную цитотоксическую форму. См., например, Pastan et al., Cell, 47:641 (1986), и Goldenberg et al., Cancer Journal for Clinicians, 44:43 (1994). Ферментативно активные токсины и их фрагменты, которые могут применяться, включают А-цепь дифтерийного токсина, несвязывающие активные фрагменты дифтерийного токсина, А-цепь экзотоксина (*Pseudomonas aeruginosa*), А-цепь рицина, А-цепь абрина, А-цепь модессина, альфа-сарцин, белки *Aleurites fordii*, диантиновые белки, белки *Phytolacca americana* (PAPI, PAPII и PAP-S), ингибитор *Momordica charantia*, курцин, кротин, ингибитор *Saponaria officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, эномицин и трихотецены. См., например, WO93/21232.

Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции, предложенные в настоящем изобретении (например, MRD-содержащие антитела) конъюгированы с радиоизотопом, таким как ^{90}Y , ^{125}I , ^{131}I , ^{123}I , ^{111}In , ^{105}Rh , ^{153}Sm , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{186}Re и ^{188}Re , с применением любого из ряда хорошо известных хелаторов или путем прямого мечения. Согласно

другим вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело соединяют с лекарственными средствами, пролекарствами или лимфокинами, такими как интерферон. В композиции, предложенные в настоящем изобретении, может быть внесена метка с помощью реагентов-лигандов, которые связывают, хелатируют или иным образом образуют комплекс с радиоизотопом металла, причем указанный реагент способен вступать в реакцию с тиольной группой встроенных цистеинов антитела, с применением техник, известный в данной области техники, таких как описанные в источнике: *Current Protocols in Immunology*, т. 1 и 2, Coligen et al., Ed. Wiley-Interscience, New York, N.Y., Pubs. (1991). Хелатные лиганды, способные образовывать комплекс с ионом металла и подходящие для применения в композициях и способах согласно настоящему изобретению, включают DOTA, DOTP, DOTMA, DTPA и TETA (Macrocyclics, Даллас, Техас). Нацеливание на радионуклиды может обеспечиваться за счет образования комплексов с конъюгатами антител с лекарственными средствами согласно настоящему изобретению (Wu et al., *Nature Biotechnology* 23(9): 1137-1146 (2005)). Линкерные реагенты, такие как DOTA-малеимид (4-малеимидобутирамидобензил-DOTA) могут быть получены с применением реакции аминокбензил-DOTA с 4-малеимидомасляной кислотой (Fluka), активированной изопропилхлорформатом (Aldrich), после процедуры согласно Axworthy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97(4): 1802-1807 (2000)). DOTA-малеимидные реагенты вступают в реакцию со свободными встроенными цистеинами в антителах и обеспечивают присутствие образующего металлокомплекс лиганда на антителе (Lewis et al., *Bioconj. Chem.* 9:72-86 (1998)). Коммерчески доступны хелатирующие линкерные реагенты для мечения, такие как DOTA-NHS (1,4,7,10-тетраазаацетилдодекан-1,4,7,10-тетрауксусной кислоты моно-(N-гидроксисукцинимидный сложный эфир) (Macrocyclics, Даллас, Техас).

Конъюгаты мультивалентных и мультиспецифических композиций, предложенных в настоящем изобретении (например, MRD-содержащих антител), и цитотоксина могут быть рутинным образом получены с применением разнообразных бифункциональных связывающих белки агентов, таких как N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитиол)пропионат (SPDP), иминотиолан (IT), бифункциональные производные сложных имидоэфиров (такие как диметиладипимидат HCl), активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидилсуберат), альдегиды (такие как глутаральдегид), бис-азидосоединения (такие как бис(р-азидобензоил) гександиамин), производные бис-дiazония (такие как бис(р-дiazонийбензоил)-этилендиамин), диизоцианаты (такие как толуол-2,6-диизоцианат), и бис-активные соединения фтора (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол). Согласно конкретным вариантам реализации указанный токсин конъюгирован с MRD-содержащим антителом посредством ферментативно расщепляемой линкерной системы (например, такой как в SGN-35). Могут также применяться конъюгаты MRD-содержащего антитела и одного или большего количества низкомолекулярных токсинов, таких как калихемицин, майтансиноиды, трихотецен и CC1065, и производных указанных токсинов, обладающих токсической активностью.

Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело может образовывать комплекс или содержать домены MRD, которые связываются с другими иммунологически активными лигандами (например, хемокинами, цитокинами и антителами или их фрагментами), причем полученная молекула связывается с неопластической клеткой или другой мишенью, а также хемокином, цитокином или эффекторной клеткой, такой как Т-клетка. Согласно определенным вариантам реализации указанные конъюгаты могут быть получены в виде гибридных белков. Ферменты согласно настоящему изобретению могут быть ковалентно связаны с антителом с применением техник, хорошо известных в данной области техники, например, с применением гетеробифункциональных реагентов для перекрестного связывания, описанных выше. Как вариант, гибридные белки, содержащие по меньшей мере антиген-связывающую область антитела согласно настоящему изобретению, соединенную с минимальным функционально активным фрагментом фермента согласно настоящему изобретению, могут быть сконструированы с применением техник рекомбинантной ДНК, известных в данной области техники.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный N-конец или C-конец антитела, с которым функционально связан MRD в указанные гибриды MRD-антитело, урокочен. Согласно предпочтительным вариантам реализации указанное укорочение не предотвращает или не уменьшает способность указанного антитела связываться с целевым антигеном через антигенсвязывающий домен. Согласно другим вариантам реализации указанное укорочение не предотвращает или не уменьшает эффекторную функцию, период полувыведения и/или АЗКЦ-активность Fc. Согласно другим вариантам реализации домены MRD присоединены в концевой области цепи указанного антитела. В частности, согласно определенным вариантам реализации указанный MRD присоединен в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 остатков от С-концевой аминокислоты тяжелой цепи. Согласно другим вариантам реализации указанный MRD присоединен в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 остатков от С-концевой аминокислоты легкой цепи. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный MRD присоединен в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 остатков от N-концевой аминокислоты тяжелой цепи. Согласно другим вариантам реализации указанный MRD присоединен в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, или 50 остатков от N-концевой аминокислоты легкой цепи. Соответственно, например, MRD, который соединен с N-концом тяжелой цепи, может быть присоединен к первой, второй, третьей, четвертой, пятой или десятой аминокислоте от N-конца тяжелой цепи. Напри-

мер, гибрид MRD-антитело, содержащий MRD, соединенный с N-концом тяжелой цепи, может включать аминокислоты 1-3 последовательности тяжелой цепи, соединенной с указанным MRD, который соединен с аминокислотой 4 последовательности тяжелой цепи.

Согласно определенным вариантам реализации один или большее количество доменов MRD присоединены к антителу в локализациях, отличных от концов легких и тяжелых цепей антитела. Указанный MRD может быть присоединен к любому фрагменту антитела, не устранившему способность указанного антитела связывать соответствующую ему мишень. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD расположен вне антитело-комбинирующего сайта. Например, указанный MRD может быть расположен в пределах последовательности тяжелой цепи или в пределах последовательности легкой цепи. В неограничивающем примере MRD может быть расположен между Fc-доменом и шарнирной областью, между шарнирной областью и доменом CH1 тяжелой цепи, между доменом CH1 и вариабельной областью тяжелой цепи, или между константной областью и вариабельной областью легкой цепи.

Согласно наблюдениям, ингибиторы ангиогенеза, нацеленные на опосредованные фактором роста эндотелия сосудов (ФРЭС) сигнальные пути, обеспечивают наилучшие временные благоприятные терапевтические эффекты с последующим восстановлением роста и прогрессированием опухоли ввиду предполагаемой способности ангиогенных опухолей адаптироваться к присутствию указанных ингибиторов. Без связи с теорией считается, что мультивалентные и мультиспецифические свойства мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), которые связывают ангиогенную мишень, обеспечивают указанным соединениям способность оказывать расширенные благоприятные антиангиогенные терапевтические эффекты по сравнению с наблюдаемыми, например, при терапии стандартными моноклональными антителами, за счет связывания нескольких отдельных связанных с ангиогенезом мишеней и разрушения таким образом механизмов устойчивости, которыми обладает ангиогенная опухоль.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает 2 или большее количество мишеней, выбранных из:

ФРЭС (т.е. ФРЭС-А), ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TIE2, TNFSF2 (ФНО-альфа), рФРФ-3, EFNal, EFN2a, ANG1, ANG2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ФРГ, ТрФР-А, ПФР, ТрФР-В, CXCL12, KIT, ГКСФ, CXCR4, PTPRC, TIE2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, Notch 1, DLL4, EGFL7, интегрин $\alpha 2\beta 1$, интегрин $\alpha 4\beta 1$, интегрин $\alpha 5\beta 1$, интегрин $\alpha \nu \beta 3$, ТФР-бета, MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAУ, VCAM1, рТцФР-А и рТцФР-В.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФРЭС и 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФРЭС. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой бевацизумаб. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФРЭС и 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФРЭС. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой бевацизумаб.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФРЭС (т.е. ФРЭС-А) и дополнительно связывает ангиогенную мишень, выбранную из:

ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TNFSF2 (ФНО-альфа), рФРФ-3, EFNal, EFN2a, ANG1, ANG2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ФРГ, TIE2, ТрФР-А, PIGF, ТрФР-В, CXCL12, KIT, ГКСФ, CXCR4, PTPRC, TIE2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, Notch 1, DLL4, ЭФР-подобного домена 7 (EGFL7), интегрин $\alpha 2\beta 1$, интегрин $\alpha 4\beta 1$, интегрин $\alpha 5\beta 1$, интегрин $\alpha \nu \beta 3$, ТФР-бета, MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAУ, VCAM1, рТцФР-А и рТцФР-В.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФРЭС и 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФРЭС. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-

компонент MRD-содержащего антитела представляет собой бевацизумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание ФРЭС с бевацизумабом. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФНО-альфа и дополнительно связывает мишень, выбранную из: Те38, ИЛ-12, ИЛ-12p40, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-1-бета, ИЛ-23, MIF, PEG2, PGE4, ФРЭС, TNFSF11 (RANKL), TNFSF13B (BLYS), GP130, CD-22 и CTLA-4. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ФНО-альфа, ИЛ-6 и TNFSF13B (BLYS). Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФНО и 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой адалимумаб, цертолизумаб, голимумаб или AME-527. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание ФНО с адалимумабом, цертолизумабом, голимумабом или AME-527.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-1 альфа и ИЛ-1-бета. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-1-бета и TNFSF11 (RANKL). Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-1-бета и мишень, выбранную из ИЛ-13, ИЛ-17A, ФНО, ФРЭС, PGE2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, TNFSF12 (TWEAK) и ФНО. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ИЛ-1-бета и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ИЛ-1-бета. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой катумаксомаб, Хома052, канакинумаб или ACZ885. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание ИЛ-1-альфа или ИЛ-1-бета с катумаксомабом, Хома052, канакинумабом или ACZ885.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-12. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-12 и дополнительно связывает ИЛ-18 или TNFSF12 (TWEAK). Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CTLA-4 и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CTLA-4. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой бриакинумаб или устекинумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание ИЛ-12 с бриакинумабом или устекинумабом. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает CTLA-4. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает CTLA4 и дополнительно связывает PDL-1 или BTNO2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CTLA-4 и одну или обе из указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CTLA-4. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой тремелиумаб или иплимумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание CTLA-4 с тремелиумабом или иплимумабом.

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-13. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-13 и дополнительно связывает мишень, выбранную из: ИЛ-1-бета, ИЛ-4, ИЛ-9, ИЛ-13, ИЛ-25, агониста рецептора лютеинизирующего гормона (LHR), цитокина макрофагов (MDC), MIF, PED2, малого богатого пролином белка 2a (SPRR2a), малого богатого пролином белка 2b (SPRR2b); регулируемого тимусом и активацией хемокина (TARC), ТФР-бета и ИЛ-25. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-13 и мишень, выбранную из ИЛ-5, ADAM8, LHR (агонист), ИЛ-23p19 и IgE. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ИЛ-13 и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ИЛ-13. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой TNX-650, лебрикизумаб или CAT354. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание ИЛ-13 с TNX-650, лебрикизумабом или CAT354.

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает RGM A. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает RGM A и дополнительно связывает мишень, выбранную из: RGM B, MAG, NgR, NogoA, OMGr и XCPГ. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают

RGM A и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает RGM A.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает CD38 и дополнительно связывает мишень, выбранную из

CD20, TNFRSF5 (CD40)

ALK1, ФНО, ФРЭС, ФРЭС-А, ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (*например*, рФРФ-1-IIIС), рФРФ-2 (*например*, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TNFSF2 (ФНО-альфа), рФРФ-3, рФРЭС-1, рФРЭС-2 и CD138.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (*например*, MRD-содержащие антитела), которые связывают CD38 и по меньшей мере 1, 2 или все 3 из указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD38. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает MOR202 или даратумумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела конкурирует за связывание CD38 с MOR202 или даратумумабом.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB1 (рЭФР) и дополнительно связывает ErbB3. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB1. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой ERBITUX®. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB1 с ERBITUX®. Согласно еще одному варианту реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой связывающее ErbB1 антитело, выбранное из: нимотузумаба, залутумумаба, матузумаба, панитумумаба, MEDX-214 и ABX-EGF. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB1 с антителом, выбранным из: нимотузумаба, залутумумаба, матузумаба, панитумумаба, MEDX-214 и ABX-EGF.

Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2, Ang2 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB2. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой HuMax-Her2™ или трастузумаб-DM1. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой трастузумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за ErbB2 связывание с трастузумабом. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и дополнительно связывает мишень, выбранную из: ErbB3, рЭФР, рИФР-1, сMet, ФРЭС, RON (MST1R), DLL4, ПФР, CDCP1 (CD318), NRP1, TNFRSF10A (DR4) и TNFRSF10B (DR5). Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и дополнительно связывает мишень, выбранную из: CD2, CD3, CD4 и NKG2D. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и ИФР-1, ИФР-2 или ИФР-1,2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (*например*, MRD-содержащие антитела), которые связывают ErbB2 и дополнительно связывают 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB2. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой HuMax-Her2™ или трастузумаб-DM1. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой трастузумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB2 с трастузумабом.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и дополнительно связывает ErbB3. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ErbB2. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой HuMax-Her2™ или трастузумаб-DM1. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой трастузумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB2 с трастузумабом. Согласно еще одному варианту реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой связывающее ErbB2 антитело, выбранное из: MDX-210 (Medarex), tgDCC-E1A (Targeted Ge-

netics), MGAH22 (MacroGenics) и пертузумаба (OMNITARG™). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB2 с антителом, выбранным из: MDX-210, tgDCC-E1A, MGAH22 и пертузумабом.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и HER2/3. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает ErbB2 и HER2/3 одновременно.

Ингибиторы ангиогенеза, нацеленные на сигнальные пути фактора роста эндотелия сосудов (ФРЭС), согласно наблюдениям, обеспечивают наилучшие временные благоприятные терапевтические эффекты, с последующим восстановлением роста и прогрессированием опухоли ввиду предполагаемой способности ангиогенных опухолей адаптироваться к присутствию указанных ингибиторов. Без связи с теорией считается, что мультивалентные и мультиспецифические свойства MRD-содержащих антител, которые связывают ангиогенную мишень, обеспечивают указанным соединениям способность оказывать расширенные благоприятные антиангиогенные терапевтические эффекты по сравнению с наблюдаемыми, например, при терапии стандартными моноклональными антителами, за счет связывания нескольких отдельных связанных с ангиогенезом мишеней и разрушения таким образом механизмов устойчивости, которыми обладает ангиогенная опухоль. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рТцФР-А и дополнительно связывает мишень, выбранную из:

ФРЭС-А, ФРЭС-В,

ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIС, рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TNFSF2 (ФНО-альфа), рФРФ-3, EFNal, EFN2, ANG1, ANG2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ИФР-1, ИФР-2, ИФР-1,2, ФРГ, TIE2, ТрФР-А, ПФР, ТрФР-В, CXCL12, KIT, GКСФ, CXCR4, PTPRC, TIE2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, рЭФР, сМЕТ, Notch 1, DLL4, EGFL7,

интегрин $\alpha 2\beta 1$, интегрин $\alpha 4\beta 1$, интегрин $\alpha 5\beta 1$, интегрин $\alpha \nu \beta 3$, ТФР-бета, MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAУ, VCAM1 и рТцФР-В.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают рТцФР-А и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рТцФР-А. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой оларатумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание рТцФР-А с оларатумабом. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой MEDI-575. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание рТцФР-А с MEDI-575.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рТцФР-В и дополнительно связывает мишень, выбранную из:

ФРЭС-А, ФРЭС-В,

ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIС), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TNFSF2 (ФНО-альфа), рФРФ-3, EFNal, EFN2, ANG1, ANG2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ИФР-1, ИФР-2, ИФР-1,2, ФРГ, TIE2, ТрФР-А, ПФР, ТрФР-В, CXCL12, KIT, GКСФ, CXCR4, PTPRC, TIE2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, рЭФР, сМЕТ, Notch 1, DLL4, EGFL7,

интегрин $\alpha 2\beta 1$, интегрин $\alpha 4\beta 1$, интегрин $\alpha 5\beta 1$, интегрин $\alpha \nu \beta 3$, ТФР-бета, MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAУ, VCAM1 и рТцФР-А. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают рТцФР-В и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рТцФР-В.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рФРЭС-1 и дополнительно связывает ангиогенную мишень, выбранную из:

ФРЭС

(*т.е.* ФРЭС-А), ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (*например*, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (*например*, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TNFSF2 (ФНО-альфа), рФРФ-3, EFNa1, EFNa2, ANG1, ANG2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ФРГ, ТрФР-А, ПФР, ТрФР-В, CXCL12, KIT, ГКСФ, CXCR4, PTPRC, TIE2, рецептора ФРЭС-2, рФРЭС-3, Notch 1, DLL4, EGFL7,

интегрин $\alpha 2\beta 1$, интегрин $\alpha 4\beta 1$, интегрин $\alpha 5\beta 1$, интегрин $\alpha \nu\beta 3$, ТФР-бета, MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAUI, VCAM1, рТцФР-А и рТцФР-В. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (*например*, MRD-содержащие антитела), которые связывают рФРЭС-1 и дополнительно связывают 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рФРЭС-1. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой IMC-18F1. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание рФРЭС-1 с IMC-18F1.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рецептора ФРЭС-2 и дополнительно связывает мишень, выбранную из:

ФРЭС (*т.е.*

ФРЭС-А), ФРЭС-В, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-4, ФРФ-7, ФРФ-8b, ФРФ-19, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (*например*, рФРФ-1-IIIc), рФРФ-2 (*например*, рФРФ-2-IIIa, рФРФ-2-IIIb и рФРФ-2-IIIc), рФРФ-3, TNFSF2 (ФНО-альфа), рФРФ-3, NRP1, ROBO4, CD30, CD33, CD55 CD80, KIT, CXCL12, Notch1, EFNa1, EFNa2, ANG1, ANG2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ФРГ, ТрФР-А, ПФР, ТрФР-В, CXCL12, KIT, ГКСФ, CXCR4, PTPRC, TIE2, рФРЭС-1, рФРЭС-3, Notch 1, DLL4, EGFL7,

интегрин $\alpha 2\beta 1$, интегрин $\alpha 4\beta 1$, интегрин $\alpha 5\beta 1$, интегрин $\alpha \nu\beta 3$, ТФР-бета, MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAUI, VCAM1, рТцФР-А и рТцФР-В. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (*например*, MRD-содержащие антитела), которые связывают рецептор ФРЭС-2 и дополнительно связывают 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рецептор ФРЭС-2. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой IMC-1C11 или DC101. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание рецептора ФРЭС-2 с IMC-1C11 или DC101.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает рецептора ФРЭС-2 и дополнительно связывает ANG2 или TIE2. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает рецептор ФРЭС-2. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой IMC-1C11, DC101 или TTAC-0001. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание рецептора ФРЭС-2 с IMC-1C11, DC101 или TTAC-0001. Согласно дополнительным вариантам реализации связывающий TIE2 компонент содержит фрагмент ANG2, который связывает TIE2. Согласно конкретным вариантам реализации указанный связывающий TIE2 компонент содержит аминокислоты 283-449 ANG2 человека, раскрытого в референсной последовательности NCBI № NP_001138.1.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывает DLL4 и дополнительно связывает мишень, выбранную из: рЭФР, ПФР, рФРЭС-1, рФРЭС-2 и ФРЭС. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (*например*, MRD-содержащие антитела), которые связывают DLL4 и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой REGN421. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание DLL4 с REGN421.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывается с ангиогенной мишенью и мишенью метастатического или инвазивного рака. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с ангиогенной мишенью и также связывает мишень метастатического или инвазивного рака, выбранную из: CXCL12, CXCR4 (*например*, CXCR4b), CCR7 (*например*, CXCR7b), CD44 (*например*, CD44v3 и CD44v6), интегрин $\alpha 2\beta 1$, интегрин $\alpha 4\beta 1$, интегрин $\alpha 5\beta 1$, интегрин $\alpha \nu\beta 1$, интегрин $\alpha \nu\beta 3$, ТФР-бета, интегрин $\alpha \nu\beta 5$, интегрин $\alpha 9\beta 1$, интегрин $\alpha 6\beta 4$,

интегрина $\alpha\text{M}\beta 2$, PD-1, ФРГ, сМЕТ, MMP2, MMP-7, MMP-9, MMP-12, ФРЭС-А, ФРЭС-В и ИФР-1. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ангиогенную мишень и также связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней метастатического или инвазивного рака, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФРЭС. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой бевацизумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ФРЭС с бевацизумабом. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с отдельными клеточными сигнальными путями. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанную с избыточными, перекрывающимися или пересекающимися сигнальными путями. Например, согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с сигнализацией PI3K/AKT/mTOR (например, ErbB2, рЭФР, рИФР-1, Notch, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIС), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIа, рФРФ-2-IIIб и рФРФ-2-IIIб), рФРФ-3, рФРФ-4, GPCR и/или с-MET). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с сигнализацией через рецепторные тирозинкиназы Raf/MEK/MAPK (например, рФРЭС-1, рецептором ФРЭС-2, рФРЭС-3, рецептором ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIС), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIа, рФРФ-2-IIIб и рФРФ-2-IIIб), рФРФ-3, рФРФ-4, CD28, RET, сМЕТ, рЭФР, ErbB2, Notch, Notch 1, Notch3, Notch4, DLL1, DLL4, Jagged, Jagged1, Jagged2, и Jagged3. Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с сигнализацией SMAD (например, Notch, TGF β , TGF β R1, TGF β R2 и BMP). Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с сигнализацией JAK/STAT (например, рецептором интерферона гамма 1 (ИФН-гамма-R1), ИФН-гамма-R3, ИФН-гамма, ИФН-альфа-R2, ИФН-альфа-R1, ИФН-альфа, ИФН-бета, рецептором ИЛ-6а (GP130), ИЛ-6, рИЛ-12B1, ИЛ-12 и рЭФР). Соответственно, настоящее изобретение охватывает MRD-содержащее антитело, которое связывается с 2 или большим количеством мишеней, выбранных из

WNT1, WNT2, WNT2b, WNT3,
WNT3A, WNT4, WNT5A, WNT5B, WNT6, WNT7A, WNT7B, WNT8A, WNT8B,
WNT9A, WNT9B, WNT10A, WNT10B, WNT11, WNT16, FZD1, FZD2, FZD4, FZD5,
FZD6, FZD7, FZD8, Notch, Notch1, Notch3, Notch4, DLL1, DLL4, Jagged, Jagged1,
Jagged2 и Jagged3.

Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с сигнализацией NF κ B

(например, BCR, TCR, pИЛ-1, ИЛ-1, FZD1, FZD2, FZD4, FZD5, FZD6, FZD7, FZD8, Notch, Notch1, Notch3, Notch4, DLL4, Jagged, Jagged1, Jagged2, Jagged3, TNFSF1 (ФНО-бета, LTa), TNFRSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFRSF1B (TNFR2), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF6B (DcR3), TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), TNFRSF 7 (CD27), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFRSF 8 (CD30), TNFSF11 (RANKL), TNFRSF11A (RANK), TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF12 (TWEAKR), TNFSF13 (APRIL), TNFSF13B (BLYS), TNFRSF13B (TACI), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF15 (TL1A), TNFRSF17 (BCMA), TNFRSF19L (RELT), TNFRSF19 (TROY), TNFRSF21 (DR6), TNFRSF25 (DR3), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFRSF5 (CD40), TNFSF2 (ФНО-альфа), TNFSF3 (LTb), TNFRSF3 (LTBR), TNFSF14 (LIGHT, лиганд HVEM), TNFRSF 14 (HVEM), TNFSF18 (лиганд GITR), TNFRSF 18 (GITR), TNFSF4 (лиганд OX40), TNFRSF 4 (OX40), TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF 9 (41BB), BMP, HPF и TFP-альфа).

Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с пролиферацией клеток

(например, ФРФ-1, ФРФ-2, ФРФ-7, ФРФ-4, ФРФ-10, ФРФ-18b, ФРФ-19, ФРФ-23, рецептора ФРФ-1 (pФРФ-1) (например, pФРФ-1-IIIС), pФРФ-2 (например, pФРФ-IIIВ и pФРФ-IIIС), pФРФ-3, pФРФ-4, TCR, TNFRSF5 (CD40), TLR1, TLR2, TLR3, TLR 4, TLR5 и TLR6).

Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с опосредованной Toll-подобным рецептором сигнализацией (например, TLR1, TLR2, TLR3, TLR 4, TLR5 и TLR6). Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с В-клеточной сигнализацией (например, mIg, гетеродимерами Igα/Igβ

(CD79a/CD79b) (α/β), CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD27, CD30, CD46, CD80, CD86, ICOSL (B7-H2), HLA-DR (CD74), PD1, PDL1, TNFRSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFRSF1B (TNFR2), TNFRSF13B (TACI), TNFRSF13C (BAFFR), TNFRSF17 (BCMA), BTLA, TNFRSF5 (CD40), TLR4, TNFRSF14 (HVEM), рецептор Fc-гамма-IB, pИЛ-4 и CRAC.

Согласно конкретному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывается с CD19 и CD20. Согласно дополнительному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает CD19, CD20 и CD22. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащие антитела) связывает 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 1 или большим количеством поверхностных маркеров В-клеток, выбранных из: CD10, CD24, CD37, CD53, CD72, CD75, CD77, CD79a, CD79b, CD81, CD82, CD83, CD84 (SLAMF5) и CD85. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 1 или большим количеством поверхностных маркеров В-клеток, выбранных из: CD10, CD24, CD37, CD53, CD72, CD75, CD77, CD79a, CD79b, CD81, CD82, CD83, CD84 (SLAMF5) и CD85. Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных поверхностных маркеров В-клеток.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD19 и мишень, выбранную из:

CD20, CD22, CD30, CD33, TNFRSF5 (CD40), CD52, CD74, CD80, CD138, pФРЭС-1, pФРЭС-2, pЭФР, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), ФНО, HPF, ФРЭС, ИФР-1,2, ИФР-2, ИФР-1 и TNFSF11 (RANKL).

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD20 и мишень, выбранную из: CD3, CD4 и NKG2D. Мультивалентные и мультиспецифические композиции

(например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CD19 и также связывают по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD19. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой MDX-1342, SGN-CD19A, XMAB®5574, SGN-19A, ASG-5ME или MEDI-551. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание CD19 с MDX-1342, SGN-CD19A, XMAB®5574, SGN-19A, ASG-5ME или MEDI-551.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD22 и мишень, выбранную из: CD19, CD20, CD23, CD30, CD33, TNFRSF5(CD40), CD52, CD74, CD80, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), ФПЭС, ФНО и НРФ. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD22 и мишень, выбранную из: CD3, CD4 и NKG2D. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CD22 и также связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD22. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой эспратумаб или инотумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание CD22 с эспратумабом или инотумабом. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой моксетумаб (CAT-8015, Cambridge Antibody Technologies). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание CD22 с моксетумабом.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает TNFRSF5 (CD40) и мишень, выбранную из:

BCMA, TNFSF11 (RANKL),

рФПЭС-1, рФПЭС-2, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), CD22, CD30, CD38,

CD56 (NCAM), CD70, CD80, CD138, ИЛ-6, ИФП-1, ИФП-2, ИФП-1,2, BlyS, APRIL и

НРФ.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD40 и мишень, выбранную из: CD3, CD4 и NKG2D. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CD40 и также связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD40. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой CP870893, дацетумаб, ANTOVA®, лукатумаб, XMAB®5485 или тенеликсимаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание CD40 с CP870893, дацетумабом, ANTOVA®, лукатумабом, XMAB®5485 или тенеликсимабом.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD33 и мишень, выбранную из: FLT3, CD44, TNFRSF10A (DR4), TNFRSF10B (DR5), CD80, MGC, рФПЭС-1, рФПЭС-2, ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО и ФПЭС. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают TNFRSF10B и также связывают по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD33. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой гемтуумаб или линтуумаб. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент, MRD-компонент и/или MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание CD33 с гемтуумабом или линтуумабом.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с опосредованной антигенпрезентирующими клетками сигнализацией (например, mIg, гетеродимерами

Igα/Igβ (CD79a/CD79b) (α/β), CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD27, CD28, CD30,

CD30L, TNFSF14 (LIGHT, лиганд HVEM), CD70, ICOS, ICOSL (B7-H2), CTLA4, PD-

1, PDL1 (B7-H1), B7-H4, B7-H3, PDL2 (B7-DC), BTLA, CD46, CD80 (B7-1), CD86 (B7-2), HLA-DR, CD74, PD1, TNFRSF 4 (OX40), TNFRSF 9 (41BB), TNFSF4 (лиганд OX40), TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF 9 (41BB), TNFRSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFRSF1B (TNFR2), TNFRSF13B (TACI), TNFRSF13C (BAFFR), TNFRSF17 (BCMA), BTLA, TNFRSF18 (GITR), MHC-1, TNFRSF5 (CD40), TLR4, TNFRSF14 (HVEM), Fc-гамма-RIIB, pИЛ-4 и CRAC).

Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с 2 или большим количеством мишеней, связанных с опосредованной Т-клеточным рецептором сигнализацией (например,

CD3, CD4, CD27, CD28, CD70, pИЛ-2, LFA-1, C4, ICOS, CTLA-4, CD45, CD80, CD86, PG-1, TIM1, TIM2, TIM3, TIM4, галектин 9, TNFRSF1A (TNFR1, p55, p60), TNFRSF1B (TNFR2), TNFRSF21 (DR6), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF25 (DR3), TNFRSF 14 (HVEM), TNFSF18, TNFRSF 18 (GITR), TNFRSF4 (OX40), TNFSF4 (лиганд OX40), PD1, PDL1, CTLA4, TNFSF9 (лиганд 41BB), TNFRSF 9 (41BB), TNFSF14 (LIGHT, лиганд HVEM), TNFSF5 (лиганд CD40), BTLA и CRAC).

Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывается с опухолевым антигеном клеточной поверхности и второй мишенью, которая связана с путем ускользания при устойчивости к химиотерапии. Согласно некоторым вариантам реализации указанный клеточной поверхности опухолевый антиген выбран из

pЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, pФРФ, pФРЭС-1, pФРЭС-2, pФРЭС-3, pТрФР-1, CD3, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD37, CD56, CD70, CD133, CD138, FOLR1, pИФР-1, Cripto, SLC44A4 и GCC.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает Р-гликопротеин (кодируемый MDR1) и антиген клеточной поверхности. Согласно конкретным вариантам реализации указанный антиген клеточной поверхности представляет собой опухолевый антиген. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный опухолевый антиген клеточной поверхности выбран из

pЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, pФРФ, pФРЭС-1, pФРЭС-2, pФРЭС-3, pТрФР-1, CD3, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD37, CD56, CD70, CD133, CD138, FOLR1, pИФР-1, Cripto, SLC44A4 и GCC.

Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание CD30 с SGN-35 (брентуксимаб). Согласно дополнительным конкретным вариантам реализации MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB2 с трастузумабом.

Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает MRP (ассоциированный с множественной лекарственной устойчивостью белок) и антиген клеточной поверхности. Согласно конкретным вариантам реализации указанный антиген клеточной поверхности представляет собой опухолевый антиген. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный опухолевый антиген клеточной поверхности выбран из

pЭФР, ErbB2, ErbB3, ErbB4, pФРФ, pФРЭС-1, pФРЭС-2, pФРЭС-3, pТрФР-1, CD3, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD37, CD56, CD70, CD133, CD138, FOLR1, pИФР-1, Cripto, SLC44A4 и GCC.

Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание CD30 с SGN-35 (брентуксимабом). Согласно дополнительным конкретным вариантам реализации MRD-содержащее антитело конкурирует за связывание ErbB2 с трастузумабом.

Согласно другим вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывается с терапевтической мишенью и второй мишенью, которая связана с путем ускользания при устойчивости к терапевтическому эффекту при нацеливании на терапевтическую мишень. Например, согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело связывается с pЭФР и мишенью, выбранной из MDR1, cMET, Notch, Notch1, Notch3, Notch4, DLL1, DLL4, Jagged, Jagged1, Jagged2 и Jagged3. Согласно некоторым вариантам

Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ErbB2, соединено со связывающим Ang2 MRD, который конкурентно ингибирует MRD, содержащий последовательность SEQ ID NO: 8. Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ErbB2, соединено с MRD, содержащим последовательность SEQ ID NO: 8.

Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один связывающий Ang2 MRD функционально связан с С-концом тяжелой цепи антитела, которое связывается с ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один связывающий Ang2 MRD функционально связан с N-концом тяжелой цепи антитела, которое связывается с ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один связывающий Ang2 MRD функционально связан с С-концом легкой цепи антитела, которое связывается с ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один связывающий Ang2 MRD функционально связан с N-концом легкой цепи антитела, которое связывается с ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один связывающий Ang2 MRD функционально связан прямо с антителом, которое связывается с ErbB2. Согласно дополнительным вариантам реализации по меньшей мере один связывающий Ang2 MRD функционально связан с антителом, которое связывается с ErbB2, посредством линкера.

Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ErbB2, функционально связано с MRD, который нацелен на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ErbB2, соединено со связывающим рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD, который связывается с тем же эпитопом рИФР-1, что и MRD, содержащий последовательность SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ErbB2, соединено со связывающим рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD, который конкурентно ингибирует MRD, содержащий последовательность SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ErbB2, соединено с MRD, кодирующим последовательность SLFVPRPERK (SEQ ID NO:103).

Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывает ErbB2, соединено с MRD, кодирующим последовательность ESDVLHFTST (SEQ ID NO:104).

Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывает ErbB2, соединено с MRD, кодирующим последовательность LRKYADGTL (SEQ ID NO:105).

Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один связывающий рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD функционально связан с С-концом тяжелой цепи антитела, которое связывается с ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один связывающий рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD функционально связан с N-концом тяжелой цепи антитела, которое связывается с ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один связывающий рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD функционально связан с С-концом легкой цепи антитела, которое связывается с ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один связывающий рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD функционально связан с N-концом легкой цепи антитела, которое связывается с ErbB2.

- 109 -

(pИФР-1) домены MRD присоединены к разным цепям антитела против ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации указанные нацеленные на Ang2, HER2/3 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) домены MRD располагаются на легкой цепи антитела против ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации указанные нацеленные на Ang2, HER2/3 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) домены MRD располагаются на тяжелой цепи антитела против ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации указанные нацеленные на Ang2, HER2/3 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) домены MRD присоединены к одному и тому же концу антитела против ErbB2. Согласно некоторым вариантам реализации указанные нацеленные на Ang2, HER2/3 и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) домены MRD присоединены к разным концам антитела против ErbB2. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие: антитело, которое нацелено на HER2/3, MRD, который нацелен на ErbB2, MRD, который нацелен на Ang2, и MRD, который нацелен на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1); мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие антитело, которое нацелено на Ang2, MRD, который нацелен на ErbB2, MRD, который нацелен на HER2/3, и MRD, который нацелен на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1); и мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), содержащие антитело, которое нацелено на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1), MRD, который нацелен на ErbB2, MRD, который нацелен на HER2/3, и MRD, который нацелен на Ang2, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим Ang2 MRD, связывается и с ErbB2, и с Ang2 одновременно. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) MRD, связывается и с ErbB2, и с рецептором инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) одновременно. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим HER2/3 MRD, связывается и с ErbB2, и с HER2/3 одновременно. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим Ang2 MRD, связывающим рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) MRD и/или связывающим HER2/3 MRD, связывается с ErbB2, Ang2, рецептором инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) и/или HER2/3 одновременно. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим(и) Ang2, рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) и/или HER2/3 MRD проявляет АЗКЦ-активность. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим(и) Ang2, рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) и/или HER2/3 MRD, понижающе регулирует Akt-сигнализацию. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим Ang2 MRD, ингибирует связывание Ang2 с TIE2. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим(и) рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) MRD, понижающе регулирует опосредованную рецептором инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) сигнализацию. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим(и) Ang2, рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) и/или HER2/3 MRD ингибирует пролиферацию клеток. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное антитело против ErbB2, функционально связанное со связывающим(и) Ang2, рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1) и/или HER2/3 MRD, ингибирует рост опухоли.

Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело нацелено на ФРЭС и ангиогенный фактор. Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело нацелено на ФРЭС и рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1). Согласно еще одному варианту реализации указанное антитело нацелено на ФРЭС и по меньшей мере один MRD нацелено на ангиогенный фактор и/или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1). Согласно одному варианту реализации антитело, которое связывается с тем же эпитопом ФРЭС, что и бевацизумаб, функционально связано с по меньшей мере одним MRD, который нацелен на ангиогенный фактор и/или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1). Согласно дополнительному варианту реализации антитело, которое конкурентно ингибирует связывание бевацизумаба, функционально связано с по меньшей мере одним MRD, который нацелен на ангиогенный фактор и/или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело, которое содержит последовательности SEQ ID NO: 78-79, функционально связано с по меньшей мере одним MRD, который нацелен на ангиогенный фактор и/или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1). Согласно дополнительным вариантам реализации антитело бевацизумаб функционально связано с по меньшей мере одним MRD, который нацелен на ангиогенный фактор и/или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pИФР-1).

Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ФРЭС, функционально связано с MRD, который нацелен на Ang2. Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое

Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ФРЭС, функционально связано с MRD, который нацелен на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1). Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ФРЭС, соединено со связывающим рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD, который связывается с тем же эпитопом рИФР-1, что и MRD, содержащий последовательность SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ФРЭС, соединено со связывающим рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD, который конкурентно ингибирует MRD, содержащий последовательность SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывается с ФРЭС, соединено с MRD, содержащим последовательность SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывает ErbB2, соединено с MRD, кодирующим последовательность SLFVPRPERK (SEQ ID NO:103).

Согласно некоторым вариантам реализации антитело, которое связывает ErbB2, соединено с MRD, кодирующим последовательность LRKYADGTL (SEQ ID NO:105).

Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один связывающий рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD функционально связан с С-концом тяжелой цепи антитела, которое связывается с ФРЭС. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один связывающий рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD функционально связан с N-концом тяжелой цепи антитела, которое связывается с ФРЭС. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один связывающий рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD функционально связан с С-концом легкой цепи антитела, которое связывается с ФРЭС. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один связывающий рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (рИФР-1) MRD функционально связан с N-концом легкой цепи антитела, которое связывается с ФРЭС.

- 111 -

вариантам реализации антитела, которое связывается с BLyS, функционально связано с MRD, который нацелен на Ang2, MRD, который нацелен на ИЛ-6, и MRD, который нацелен на ФНО. Согласно некоторым вариантам реализации указанные ФНО-, Ang2-, ИЛ-6- и/или BLyS-связывающие домены MRD расположены на одной цепи антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанные ФНО-, Ang2-, ИЛ-6- и/или BLyS-связывающие домены MRD расположены на том же конце антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанные ФНО-, Ang2-, ИЛ-6- и/или BLyS-связывающие домены MRD расположены на разных цепях антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанные ФНО-, Ang2-, ИЛ-6- и/или BLyS-связывающие домены MRD расположены на разных концах антитела.

VI. Способы получения гибридов антитело-MRD.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции, предложенные в настоящем изобретении (например, MRD-содержащие антитела), и домены MRD могут быть получены любым известным в данной области техники способом синтеза антител, полипептидов, иммуноконъюгатов и цитотоксинов, в частности, посредством химического синтеза или техник рекомбинантной экспрессии. Преимущество мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) заключается в том, что они могут быть получены с применением известных в данной области техники протоколов получения антител. Молекулы гибрида антитело-MRD могут кодироваться полинуклеотидом, содержащим последовательность нуклеотидов. Соответственно, полинуклеотиды, описанные в настоящем документе могут кодировать MRD, тяжелую цепь антитела, легкую цепь антитела, гибридный белок, содержащий тяжелую цепь антитела и по меньшей мере один MRD, и/или гибридный белок, содержащий легкую цепь антитела и по меньшей мере один MRD.

Соответственно, в настоящем изобретении предложены векторные конструкции, содержащие последовательность(и) полинуклеотидов, кодирующую(ие) мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), и клетка-хозяин, содержащая указанные векторные конструкции. Стандартные техники клонирования и трансформации могут использоваться для получения клеточных линий, экспрессирующих мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению.

Рекомбинантные экспрессионные векторы, содержащие последовательность(и) полинуклеотидов, кодирующую(ие) мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению, могут быть получены с применением хорошо известных техник. Экспрессионные векторы включают полинуклеотидную кодирующую последовательность, функционально связанную с подходящими транскрипционными или трансляционными регуляторными нуклеотидными последовательностями, например, происходящими из генов млекопитающих, микроорганизмов, вирусов или насекомых. Примеры регуляторных последовательностей, присутствующих в экспрессионных векторных конструкциях, включают транскрипционные промоторы, операторы, энхансеры, мРНК-сайты связывания рибосомы и/или другие подходящие последовательности, которые контролируют инициацию и терминацию транскрипции и трансляции. Нуклеотидные последовательности "функционально связаны", если регуляторная последовательность функционально относится к последовательности нуклеотидов соответствующего полипептида. Соответственно, промоторная последовательность функционально связана, например, с последовательностью тяжелой цепи антитела-MRD, если промоторная последовательность нуклеотидов контролирует транскрипцию соответствующей последовательности нуклеотидов. Полинуклеотидная кодирующая последовательность в экспрессионном векторе может включать дополнительные гетерологичные последовательности, кодирующие такие полипептиды, как сигнальные пептиды, в природе не связанные с последовательностями тяжелых и/или легких цепей антитела. Например, последовательность нуклеотидов сигнального пептида (секреторная лидерная последовательность) может быть соединена внутри рамки с полипептидной последовательностью таким образом, чтобы MRD-содержащее антитело секретировалось в периплазматическое пространство или в среду. Сигнальный пептид, функциональный в заданных клетках-хозяевах, усиливает внеклеточную секрецию подходящего антитела. Сигнальный пептид может отщепляться от полипептида при секретировании антитела из клетки. Примеры последовательностей, кодирующих секреторные сигналы, которые могут быть включены в экспрессионные векторы, включают описанные, например, в патентах США № 5698435, 5698417 и 6204023.

Для экспрессирования кодирующей последовательности MRD-содержащего антитела могут использоваться разнообразные системы хозяев и экспрессионных векторов.

Клетки-хозяева, подходящие для настоящего изобретения, включают, не ограничиваясь перечисленными, микроорганизмы, такие как бактерии (например, *E. coli*, *B. subtilis*), трансформированные рекомбинантными экспрессионными векторами с бактериофаговой ДНК, плазмидной ДНК или космидной ДНК, содержащими кодирующие антитело последовательности; дрожжи (например, *Saccharomyces*, *Pichia*), трансформированные рекомбинантными дрожжевыми экспрессионными векторами, содержащими кодирующие антитело последовательности; системы клеток насекомых, инфицированные рекомбинантными вирусными экспрессионными векторами (например, бакуловирусными), содержащими кодирующие антитело последовательности; системы клеток растений, инфицированные рекомбинантными вирусными экспрессионными векторами (например, вирус мозаики цветной капусты, CaMV; вирус та-

бачной мозаики, TMV) или трансформированные рекомбинантными плазмидными экспрессионными векторами (например, Ti-плазмидой), содержащими MRD-содержащее кодирующее антитело последовательности. Согласно конкретным вариантам реализации системы клеток млекопитающих используют для получения мультивалентных и мультиспецифических композиций, предложенных в настоящем изобретении (например, MRD-содержащие антитела). В системах клеток млекопитающих, как правило, задействованы рекомбинантные экспрессионные конструкции, содержащие промоторы, происходящие из генома клеток млекопитающих (например, промотор металлотионеина) или вирусов млекопитающих (например, поздний аденовирусный промотор; промотор вируса осповакцины 7,5K). Примеры клеток-хозяев млекопитающих, подходящих для получения мультивалентных и мультиспецифических композиций, предложенных в настоящем изобретении, включают клетки CHO, клетки BHK, клетки NS0, клетки SP2/0, клетки миеломы YO, клетки миеломы мыши P3X63, клетки PER, клетки PER.C6, клетки COS, клетки 293, клетки 3T3 и клетки гибридомы. Векторы, содержащие полинуклеотиды, кодирующие предложенные в настоящем изобретении мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) или его участки или фрагменты, включают плазмидные векторы, одноцепочечные и двуцепочечные фаговые векторы, а также вирусные одноцепочечные и двуцепочечные РНК-или ДНК-векторы. Указанные векторы могут быть рутинным образом введены в клетки-хозяева с применением известных техник введения ДНК и РНК в клетки. Фаговые и вирусные векторы могут также быть введены в клетки-хозяева в форме упакованного или инкапсулированного вируса с применением известных техник инфицирования и трансдукции. Кроме того, вирусные векторы могут быть компетентными по репликации или, как вариант, дефективными по репликации. Как вариант, для получения белка также могут использоваться бесклеточные системы трансляции с применением РНК, происходящих из экспрессионных ДНК-конструкций согласно настоящему изобретению (см., например, опубликованные международные заявки WO86/05807 и WO89/01036; и патент США № 5122464).

Также в настоящем документе предложены способы получения MRD-содержащего антитела, включающие: культивирование клетки-хозяина, содержащей один или большее количество полинуклеотидов или экспрессионных векторов, содержащих один или большее количество выделенных полинуклеотидов, в среде в условиях, обеспечивающих экспрессирование указанного одного или большего количества полинуклеотидов, при этом указанный(ые) один или большее количество полинуклеотидов кодирует(ют) один или большее количество полипептидов, образующих часть MRD-содержащего антитела; и выделение указанного MRD-содержащего антитела.

Прокариоты, подходящие в качестве клеток-хозяев при получении композиций, предложенных в настоящем изобретении (например, доменов MRD), включают грамотрицательные или грамположительные организмы, такие как *E. coli* и *B. subtilis*. Экспрессионные векторы для применения в прокариотических клетках-хозяевах обычно содержат один или большее количество фенотипически селективируемых маркерных генов (например, гены, кодирующие белки, придающие устойчивость к антибиотикам или поддерживающие автотрофный рост). Примеры экспрессионных векторов, подходящих для прокариотических хозяев, включают серии векторов pKK223-3 (Pharmacia, Упсала, Швеция), pGEM1 (Promega, Висконсин, США), pET (Novagen, Висконсин, США) и pRSET (Invitrogen, Калифорния, США) (см., например, Studier, J. Mol. Biol. 219:37 (1991) и Schoepfer, Gene 124:83 (1993)). Примеры промоторных последовательностей, часто используемых в экспрессионных векторах для прокариотических клеток-хозяев, включают T7, (Rosenberg et al., Gene 56: 125-135 (1987)), бета-лактамазу (пенициллиназу), систему с лактозным промотором (Chang et al., Nature 275:615 (1978)); и Goeddel et al., Nature 281:544 (1979)), систему с триптофановым (trp) промотором (Goeddel et al., Nucl. Acids Res. 8:4057, (1980)) и tac-промотором (Sambrook et al., 1990, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2^d Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N. Y.).

Согласно альтернативным вариантам реализации могут применяться системы эукариотических клеток-хозяев, в том числе дрожжевых клеток, трансформированных рекомбинантными дрожжевыми экспрессионными векторами, содержащими кодирующую последовательность MRD-содержащего антитела согласно настоящему изобретению, например, экспрессионные системы, описанные в заявке на патент США № 60/344169 и в WO03/056914 (способы получения гликопротеина, подобного гликопротеину человека в не принадлежащей человеку эукариотической клетке-хозяине) (содержание каждого из указанных источников полностью включено посредством ссылки). Примеры дрожжей, которые могут применяться для получения композиций, предложенных в настоящем изобретении, например, домены MRD, включают дрожжи рода *Saccharomyces*, *Pichia*, *Actinomyces* и *Kluyveromyces*. Дрожжевые векторы, как правило, содержат последовательность начала репликации дрожжевой плазмиды 2 μ , автономно реплицирующуюся последовательность (ARS), промоторную область, последовательности полиаденилирования, последовательности терминации транскрипции и ген селективируемого маркера. Примеры промоторных последовательностей в дрожжевых экспрессионных конструкциях включают промоторы металлотионеина, 3-фосфоглицераткиназы (Hitzeman et al., J. Biol. Chem. 255:2073, (1980)) и других гликолитических ферментов, таких как енoлаза, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, гексокиназа, пируватдекарбоксилаза, фосфофруктокиназа, глюкозо-6-фосфат-изомераза, 3-фосфоглицератмутаза, пируваткиназа, триозофосфатизомераза, фосфоглюкоизомераза и глюкокиназа. Дополнительные подходящие век-

торы и промоторы для применения для экспрессии у дрожжей, а также протоколы трансформации дрожжей известны в данной области техники. См., например, Fleer et al., *Gene*, 107:285-195 (1991) и Hinnen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 75:1929 (1978).

Системы клеток-хозяев на основе культур клеток растений или насекомых также подходят для получения композиций, предложенных в настоящем изобретении. Такие системы клеток-хозяев включают, например, системы клеток насекомых, инфицированные рекомбинантными вирусными экспрессионными векторами (например, бакуловирусными), содержащими кодирующую последовательность MRD-содержащего антигена; системы клеток растений, инфицированных рекомбинантными вирусными экспрессионными векторами (например, вирусом мозаики цветной капусты, CaMV; вирусом табачной мозаики, TMV) или трансформированные рекомбинантными плазмидными экспрессионными векторами (например, Ti-плазмидой), содержащими кодирующую последовательность MRD-содержащего антигена, включая, но не ограничиваясь перечисленными, экспрессионные системы, описанные в патенте США № 6815184, WO2004/057002, WO2004/024927, заявках на патент США №60/365769, 60/368047 и WO2003/078614; содержание каждого из перечисленных источников полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно альтернативным вариантам реализации могут использоваться другие эукариотические системы клеток-хозяев, включая системы животных клеток, инфицированных рекомбинантными вирусными экспрессионными векторами (например, аденовирусом, вирусом осповакцины), в том числе клеточные линии, сконструированные таким образом, что они содержат несколько копий ДНК, кодирующей MRD-содержащее антигенное, либо стабильно амплифицирующей (CHO/dhfr), либо нестабильно амплифицирующей в двойных микрохромосомах (например, линии клеток мыши). Согласно одному варианту реализации вектор, содержащий полинуклеотид(ы), кодирующий(ие) MRD-содержащее антигенное согласно настоящему изобретению, является полицистронным. Примеры клеток млекопитающих, подходящих для получения указанных композиций, включают клетки 293 (например, 293T и 293F), клетки CHO, клетки BHK, клетки NS0, клетки SP2/0, клетки миеломы YO, клетки миеломы мыши P3X63, клетки PER, клетки PER.C6 (Круцелл, Нидерланды) или клетки гибридомы, другие клетки млекопитающих. Дополнительные примеры клеток-хозяев млекопитающих, подходящих для реализации настоящего изобретения, включают, не ограничиваясь перечисленными, клетки VERY, Hela, COS, MDCK, 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 и T47D, CRL7030 и HsS78Bst. Некоторые примеры экспрессионных систем и способов отбора описаны в приведенных ниже и цитируемых в настоящем документе источниках: Borth et al., *Biotechnol. Bioeng.* 71(4):266-73 (2000-2001), Werner et al., *Arzneimittelforschung/Drug Res.* 48(8):870-80 (1998), Andersen and Krummen, *Curr. Op. Biotechnol.* 13:117-123 (2002), Chadd and Chamow, *Curr. Op. Biotechnol.* 12:188-194 (2001) и Giddings, *Curr. Op. Biotechnol.* 12: 450-454 (2001).

Дополнительные примеры экспрессионных систем и способов отбора описаны у Logan & Shenk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:355-359 (1984) и Bittner et al., *Methods in Enzymol.* 153:51-544(1987)). Последовательности контроля транскрипции и трансляции для экспрессионных векторов клеток-хозяев млекопитающих часто происходят из вирусных геномов. Часто используемые промоторные последовательности и энхансерные последовательности в экспрессионных векторах для млекопитающих включают последовательности, происходящие из полиомавируса, аденовируса 2, вируса обезьян 40 (SV40) и цитомегаловируса человека (CMV). Примеры коммерчески доступных экспрессионных векторов для применения в клетках-хозяевах млекопитающих включают pCEP4 (Invitrogen®) и pcDNA3 (Invitrogen®).

Ряд систем селекции может применяться в экспрессионных векторных системах на основе клеток млекопитающих, включая, но не ограничиваясь перечисленными, гены тимидинкиназы вируса простого герпеса, гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы и аденинфосфорибозилтрансферазы (Lowy et al., *Cell* 22:817 (1980)), которые могут применяться в клетках tk, hgp^r или ap^r, соответственно. Дополнительно, в качестве основы для отбора может использоваться устойчивость к антиметаболитам, например, для dhfr, gpt, neo, hyg^r, trpB, hisD, ODC (орнитиндекарбоксилазной) и глутаминсинтазной системы. Хорошо известные специалистам в данной области техники способы могут применяться для конструирования экспрессионных векторов, содержащих кодирующую последовательность MRD-содержащего антигена наряду с подходящими сигналами контроля транскрипции/трансляции. Указанные способы включают техники рекомбинантной ДНК *in vitro*, синтетические техники и *in vivo* рекомбинацию/генетическую рекомбинацию. См., например, техники, описанные у Maniatis et al., *MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL*, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y. (1989) и Ausubel et al., *CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY*, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1989).

Для экспрессирования кодирующей последовательности MRD-содержащего антигена могут использоваться разнообразные системы векторной экспрессии у хозяев. Может быть выбран штамм клеток-хозяев, который модулирует экспрессию встроенных последовательностей антигена, или модифицирует и подвергает процессингу продукт гена антигена специфическим нужным образом. Такие модификации (например, гликозилирование) и процессинг (например, расщепление) белковых продуктов могут быть важны для функции белка. Разные клетки-хозяева обладают характеристическими специфическими механизмами посттрансляционного процессинга и модификации белков и генных продуктов. Могут быть

выбраны подходящие клеточные линии или системы хозяев для обеспечения корректной модификации и процессинга антитела или его экспрессируемого фрагмента. С этой целью могут использоваться эукариотические клетки-хозяева, обладающие клеточными механизмами для надлежащего процессинга первичного транскрипта, гликозилирования и фосфорилирования генного продукта.

Стабильная экспрессия, как правило, обеспечивает более воспроизводимые результаты, чем транзистная экспрессия, а также лучше подходит для массового производства в больших масштабах; однако определение того, подходит ли транзистная экспрессия лучше в конкретной ситуации, находится в пределах компетенции специалиста в данной области техники. Вместо применения экспрессионных векторов, которые содержат вирусные точки начала репликации, клетки-хозяева могут быть трансформированы соответствующими кодирующими нуклеиновыми кислотами, контролируемые подходящими элементами контроля экспрессии (например, промоторными, энхансерными последовательностями, терминаторами транскрипции, сайтами полиаденилирования и т.д.) и селективируемым маркером. После введения чужеродной ДНК сконструированные клетки могут культивироваться в течение 1-2 дней на обогащенной среде, а затем их переводят на селективную среду. Селективируемый маркер в рекомбинантной плазмиде придает устойчивость к селекции и позволяет отбирать клетки, которые стабильно интегрировали плазмиду в хромосомы, и культивировать их с получением очагов, которые, в свою очередь, могут быть клонированы и размножены для получения клеточных линий.

Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) экспрессируются на уровнях (в титрах), сопоставимых с уровнями антител. Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) экспрессируются на уровне, составляющем по меньшей мере приблизительно 10 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 20 мкг/мл, или по меньшей мере приблизительно 30 мкг/мл. Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) экспрессируются на уровне, составляющем по меньшей мере приблизительно 40 мкг/мл или по меньшей мере приблизительно 50 мкг/мл. Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) экспрессируются на уровне, составляющем по меньшей мере приблизительно 60 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 70 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 80 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 90 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 95 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 100 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 110 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 120 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 130 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 140 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 150 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 160 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 170 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 180 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 190 мкг/мл, или по меньшей мере приблизительно 200 мкг/мл. Уровни экспрессии молекулы антитела могут быть повышены с помощью амплификации вектора и применения рекомбинантных способов и инструментов, известных в данной области техники, включая стратегии реконструкции хроматина для усиления экспрессии трансгена.

Настоящее изобретение также направлено на способ модификации профиля гликозилирования MRD-содержащего антитела, продуцируемого клеткой-хозяином, включающий экспрессию в указанной клетке-хозяине нуклеиновой кислоты, кодирующей MRD-содержащее антитело, и нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид с гликозилтрансферазной активностью, или вектора, содержащего такие нуклеиновые кислоты. Гены с гликозилтрансферазной активностью включают $\beta(1,4)$ -N-ацетилглюкозаминилтрансферазу III (GnTIII), α -маннозидазу II (ManII), $\beta(1,4)$ -галактозилтрансферазу (GalT), $\beta(1,2)$ -N-ацетилглюкозаминилтрансферазу I (GnTI) и $\beta(1,2)$ -N-ацетилглюкозаминилтрансферазу II (GnTII). Согласно одному варианту реализации в клетке-хозяине экспрессируется комбинация генов с гликозилтрансферазной активностью (например, GnTIII и ManII). Аналогичным образом, указанный способ также охватывает экспрессию одного или большего количества полинуклеотидов, кодирующих MRD-содержащее антитело, в клетке-хозяине, в которой ген гликозилтрансферазы был разрушен или иным образом дезактивирован (например, в клетке-хозяине, в которой активность гена, кодирующего $\alpha 1$ -6-кор-фукозилтрансферазу, была нокаутирована). Согласно еще одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело может быть получено в клетке-хозяине, которая также экспрессирует полинуклеотид, кодирующий полипептид, обладающий GnTIII-активностью, для модификации паттерна гликозилирования. Согласно конкретному варианту реализации указанный полипептид, обладающий GnTIII-активностью, представляет собой гибридный полипептид, содержащий домен локализации в комплексе Гольджи полипептидов-резидентов аппарата Гольджи. Согласно еще одному варианту реализации экспрессия MRD-содержащего антитела в клетке-хозяине, которая экспрессирует полинуклеотид, кодирующий полипептид, обладающий GnTIII-активностью, приводит к получению MRD-содержащего антитела с повышенным сродством к связыванию Fc-рецептора и повышенной эффекторной функцией. Соответственно, согласно одному варианту реализации настоящее изобретение относится к клетке-хозяину, содержащей:

(а) выделенную нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность, кодирующую полипеп-

тид, обладающий GnTIII-активностью; и

(b) выделенный полинуклеотид, кодирующий MRD-содержащее антитело согласно настоящему изобретению, например, гибридное, приматизированное или гуманизированное антитело.

Согласно еще одному варианту реализации указанный полипептид, обладающий активностью GnTIII, представляет собой гибридный полипептид, содержащий каталитический домен GnTIII, и домен локализации в комплексе Гольджи представляет собой домен локализации маннозидазы II. Способы получения таких гибридных полипептидов и их применения для получения антител с усиленными эффекторными функциями раскрыты в предварительной заявке на патент США 60/495142 и опубликованной заявке на патент США № 2004/0241817, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) с измененным гликозилированием, продуцируемые клетками-хозяевами согласно настоящему изобретению, как правило, демонстрируют повышенное сродство к связыванию Fc-рецептора и/или повышенную эффекторную функцию в результате модификации клетки-хозяина (например, за счет экспрессии гена гликозилтрансферазы). Повышенное сродство к связыванию Fc-рецептора может представлять собой повышенное связывание с активирующим рецептором Fcγ, таким как рецептор FcγRIIIa. Повышенная эффекторная функция может представлять собой что-либо одно или более из следующего: усиленная антителозависимая клеточная цитотоксичность, усиленный антителозависимый клеточный фагоцитоз (АЗКФ), увеличенная секреция цитокинов, увеличенное опосредованное иммунными комплексами поглощение антигена антигенпрезентирующими клетками, повышенная опосредованная Fc клеточная цитотоксичность, повышенное связывание с NK-клетками, повышенное связывание с макрофагами, повышенное связывание с полиморфноядерными клетками (ПЯК), повышенное связывание с моноцитами, повышенное перекрестное связывание связанных с мишенью антител, усиленная прямая сигнализация, индуцирующая апоптоз, усиленное созревание дендритных клеток и усиленное примирование Т-клеток.

После того как мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) согласно настоящему изобретению получена при помощи рекомбинантной экспрессии, она может быть очищена любым способом, известным в данной области техники для очищения молекул иммуноглобулина, например, с помощью хроматографии (например, ионообменной, аффинной, в частности, за счет сродства к специфическому антигену после хроматографии с белком А и хроматографии на эксклюзионной колонке), центрифугирования, дифференциальная растворимость, или с помощью любой другой стандартной техники очищения белков. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции согласно настоящему изобретению или их фрагменты, необязательно, соединены с гетерологичными полипептидными последовательностями, описанными в настоящем документе или известными в данной области техники, облегчающими очищение. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции или их фрагменты, необязательно, соединены с облегчающими очищение гетерологичными полипептидными последовательностями, описанными в настоящем документе или известными в данной области техники. В частности, предполагается, что лиганды (например, антитела и другие аффинные матрицы) доменов MRD или других компонентов мультивалентных и мультиспецифических композиций могут применяться в аффинных колонках для аффинной очистки, и, необязательно, домены MRD или другие компоненты указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, связываемые указанными лигандами, удаляют из композиции перед получением готовых мультивалентных и мультиспецифических композиций с применением техник, известных в данной области техники.

Применение гибридов антитело-MRD.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), описанные в настоящем документе подходят для разнообразных применений, включая, но не ограничиваясь указанным, способы терапевтического лечения, например, лечения раковых заболеваний. Согласно определенным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) подходят для ингибирования роста опухоли, уменьшения неоваскуляризации, уменьшения ангиогенеза, индуцирования дифференцировки, уменьшения объема опухоли и/или снижения онкогенности опухоли. Способы применения могут быть представлены способами для применения *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*. Терапевтические средства для лечения рака и их дозировки, способы введения и рекомендации по применению известны в данной области техники и были описаны в таких литературных источниках, как "Настольный справочник врача" (Physician's Desk Reference, "PDR"). В "PDR" описаны дозировки агентов, которые использовались в лечении различных раковых заболеваний. Терапевтически эффективные режимы дозирования и дозировки указанных выше химиотерапевтических лекарственных средств зависят от конкретного ракового заболевания, лечение которого проводят, степени заболевания и других факторов, которые известны практикующему специалисту в данной области техники, и могут быть определены практикующим врачом. Содержание справочника "PDR" явным образом и полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. В издании "Настольного справочника врача" (PDR) 2006 года описан механизм действия, предпочтительные дозы

для лечения и схемы дозирования для талидомида (стр. 979-983), велкейда (VELCADE®) (стр. 2102-2106) и мелфалана (стр. 976-979).

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят в составы, дозируют и вводят соответствующим надлежащей клинической практике образом. Факторы, учитываемые в данном контексте, включают конкретное расстройство, лечение которого проводят, конкретного млекопитающего, лечение которого проводят, клинического состояния индивидуального пациента, причины расстройства, участка доставки агента, способа введения, расписания введения и других факторов, известных практикующим медицинским специалистам. Диапазоны доз для введения мультивалентных и мультиспецифических композиций, предложенных в настоящем изобретении, достаточно велики для обеспечения требуемого эффекта, при котором происходит облегчение симптомов заболевания, опосредованного целевой молекулой. Дозировка не должна быть слишком большой, чтобы не вызывать нежелательных побочных явлений, таких как синдром повышенной вязкости, отек легких, застойная сердечная недостаточность и т.п. Обычно дозировка варьирует в зависимости от возраста, состояния, пола и степени заболевания пациента и может быть определена специалистом в данной области техники. Дозировка может корректироваться индивидуально лечащим врачом в случае какого-либо осложнения. Получение фармакологической композиции, которая содержит растворенные или диспергированные активные ингредиенты, хорошо известно в данной области техники. Как правило, такие композиции получают в виде стерильных подходящих для инъекций жидких растворов либо суспензий, водных или неводных. Однако могут также быть получены твердые формы, подходящие для растворения или суспендирования в жидкости перед использованием. Состав может также быть эмульгирован. Таким образом, содержащая антитело-MRD композиция может принимать форму растворов, суспензий, таблеток, капсул, составов для пролонгированного высвобождения или порошков, или других композиционных форм.

Согласно некоторым вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении (например, мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела)), вводят в состав, обеспечивающий или оптимизирующий распределение *in vivo*. Например, гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) исключает многие высокогидрофильные соединения и, при необходимости, указанные композиции получают в таком виде, чтобы усиливать их проникновение через ГЭБ, например, введением в липосомы. Способы получения липосом описаны, например, в патентах США № 4522811; 5374548; и 5399331. Липосомы могут содержать один или большее количество фрагментов, избирательно транспортируемых в специфические клетки или органы, и, соответственно, улучшающих направленную доставку лекарственного средства (см., например, *Ranade Clin. Pharmacol.* 29:685 (1989)).

Мультивалентные и мультиспецифические связывающие свойства предложенных в настоящем изобретении композиций обеспечивают рациональный дизайн терапевтических средств, предпочтительно направленных на конкретные представляющие интерес анатомические области *in vivo*. Например, согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело локализуется в области воспаления или локализации опухоли за счет связывания антитело-комбинирующего сайта с молекулой, характеризующейся повышенной экспрессией в области локализации воспаления или опухоли, соответственно. Согласно конкретным вариантам реализации средство антитело-комбинирующего сайта в MRD-содержащем антителе к связыванию мишени *in vivo* по меньшей мере в 3, по меньшей мере в 10, по меньшей мере в 30 или по меньшей мере в 100 раз выше сродства одной или большего количества мишеней MRD, связываемых указанным MRD-содержащим антителом (например, поверхностного антигена, который в иных случаях не рассматривается в качестве приемлемой мишени антитела, ввиду, например, неспецифической поверхностной экспрессии или низкого сродства к связыванию мишени, ассоциированного со стандартными технологиями антител).

Терапевтические составы согласно настоящему изобретению, необязательно, содержат фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы (*Remington's Pharmaceutical Sciences* 18th edition, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18042 [1990]). Приемлемые носители, вспомогательные вещества, или стабилизаторы нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях, и включают буферы, антиоксиданты, в том числе аскорбиновую кислоту, метионин, витамин Е, матабисульфит натрия, консерванты, изотонирующие агенты, стабилизаторы, комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок) и/или хелатирующие агенты, такие как ЭДТК. Физиологически переносимые носители хорошо известны в данной области техники. Аналогичным образом, мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению могут включать фармацевтически приемлемые соли их компонентов. Фармацевтически приемлемые соли включают соли присоединения кислоты (образованные свободными аминокгруппами полипептида), образующиеся при реакции с неорганическими кислотами, например, соляной или фосфорной кислотами, или такими органическими кислотами, как уксусная, винная, миндальная и т.п. Соли, образованные свободными карбоксильными группами, могут также быть получены из неорганических оснований, например, гидроксида натрия, калия, аммония, кальция или железа, и таких органических оснований, как изопропиламин, триметиламин, 2-этиламиноэтанол, гистидин, прокаин и т.п.

Подходящие вспомогательные вещества включают, например, воду, солевой раствор, декстрозу,

глицерин, этанол или т.п., и их комбинации. Дополнительные вспомогательные вещества, подходящие для получения составов с композициями, предложенными в настоящем изобретении, включают агент, который может действовать как:

- (1) наполнитель,
- (2) усилитель растворимости и
- (3) стабилизатор.

Такие вспомогательные вещества включают, не ограничиваясь перечисленными: многоатомные сахарные спирты (перечисленные выше); аминокислоты, такие как аланин, глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин, лизин, орнитин, лейцин, 2-фенилаланин, глутаминовая кислота, треонин и т.д.; органические сахара или сахарные спирты, такие как сахароза, лактоза, лактит, трегалоза, стахиоза, манноза, сорбоза, ксилоза, рибоза, рибит, миоинозитоza, миоинозит, галактоза, галактит, глицерин, циклиты (например, инозит), полиэтиленгликоль; серосодержащие восстанавливающие агенты, такие как мочевины, глутатион, тиоктовая кислота, тиогликолят натрия, тиоглицерин, альфа-монотиоглицерин и натрия тиосульфат; низкомолекулярные белки, такие как сывороточный альбумин человека, бычий сывороточный альбумин; желатин или другие иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; моносахариды (например, ксилоза, манноза, фруктоза, глюкоза); дисахариды (например, лактоза, мальтоза, сахароза); трисахариды, такие как раффиноза; и полисахариды, такие как декстрин или декстран.

Буферы используют для контроля показателей pH, с поддержанием их в диапазоне, оптимизирующем терапевтическую эффективность, в частности, в том случае, когда стабильность зависит от pH. Согласно некоторым вариантам реализации буферы присутствуют в концентрациях, варьирующих от приблизительно 1 мМ до приблизительно 200 мМ, от приблизительно 1 мМ до приблизительно 100 мМ или от приблизительно 1 мМ до приблизительно 50 мМ. Подходящие буферные агенты для применения в составах согласно настоящему изобретению включают органические и неорганические кислоты и их соли. Например, цитрат, фосфат, сукцинат, тартрат, fumarat, глюконат, оксалат, лактат, ацетат. Кроме того, буферы могут содержать соли гистидина и триметиламина, такие как Tris.

Стабилизаторы, называемые модификаторами тоничности, присутствуют для корректировки или поддержания тоничности жидкой композиции. При использовании с большими заряженными биомолекулами, такими как белки и антитела, стабилизаторы взаимодействуют с заряженными группами боковых цепей аминокислот, уменьшая потенциал для внутримолекулярных и межмолекулярных взаимодействий. Примеры модифицирующих тоничность агентов, подходящих для получения составов согласно настоящему изобретению, включают многоатомные сахарные спирты, предпочтительно трехатомные или более многоатомные сахарные спирты, такие как глицерин, эритрит, арабит, ксилит, сорбит и маннит. Жидкие композиции могут также содержать жидкие фазы помимо воды и вместо воды. Примерами таких дополнительных жидких фаз являются глицерин, растительные масла, такие как хлопковое масло, органические сложные эфиры, такие как этилолеат, и водно-масляные эмульсии.

Согласно одному варианту реализации терапевтическая композиция содержит мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело) в количестве, составляющем по меньшей мере 0,1% гибридного MRD-содержащего антитела от общей массы терапевтической композиции. Процент по массе представляет собой отношение массы MRD-содержащего антитела и общей массы композиции. Соответственно, например, 0,1% по массе составляет 0,1 г MRD-содержащего антитела на 100 г композиции.

Составы для парентерального введения включают стерильные водные или неводные растворы, суспензии и эмульсии. Примерами неводных растворителей являются пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло, и подходящие для инъекций органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Водные носители включают воду, спиртовые/водные растворы, эмульсии или суспензии, включая солевые и забуференные среды. В соответствии с настоящим изобретением фармацевтически приемлемые носители включают, не ограничиваясь перечисленными, 0,01-0,1M и, предпочтительно, 0,05M фосфатный буфер или 0,8% солевой раствор. Другие распространенные основы для парентерального применения включают растворы фосфата натрия, декстрозный раствор Рингера, декстрозы и хлорида натрия, лактатный раствор Рингера или жирные масла. Основы для внутривенного применения включают восполняющие жидкость и питательные вещества агенты, восполняющие электролиты агенты, например, на основе декстрозного раствора Рингера, и т.п. Могут также присутствовать консерванты и другие добавки, такие как, например, противомикробные средства, антиоксиданты, хелатирующие агенты и инертные газы и т.п.

В частности, фармацевтические композиции, подходящие для инъекций, как правило, включают стерильные водные растворы (в случае водорастворимых композиций) или дисперсии и стерильные порошки для экстенпорального приготовления стерильных подходящих для инъекций растворов или дисперсий. В таких случаях композиция должна быть стерильной и должна быть текучей в достаточной степени, чтобы позволять легкое введение через шприц. Она должна быть стабильной в условиях производства и хранения и предпочтительно защищена от загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содер-

жащую, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль, и т.п.) и их подходящие смеси. Нужная текучесть может поддерживаться, например, за счет применения покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем применения поверхностно-активных веществ. Подходящие составы для применения в терапевтических способах, раскрытых в настоящем документе, описаны в руководстве "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., 16th ed. (1980).

Предотвращение действия микроорганизмов может достигаться за счет различных антибактериальных и антимикотических агентов, например, парабенов, хлорбутана, фенола, аскорбиновой кислоты, тимеросала и т.п. во многих случаях предпочтительно включение изотонических агентов, например, Сахаров, полиспиртов, таких как маннит, сорбит, или хлорида натрия в композицию. Пролонгированная абсорбция подходящих для инъекций композиций может обеспечиваться путем включения в композицию агента, задерживающего абсорбцию, например, моностеарата алюминия и желатина.

Согласно одному варианту реализации фармацевтические составы с композициями согласно настоящему изобретению содержат соединение, способное снижать вязкость водного состава, содержащего мультивалентные и моновалентные мультиспецифические композиции. Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция представляет собой MRD-содержащее антитело. Согласно дополнительному варианту реализации указанное соединение, способное снижать вязкость состава, выбрано из группы, состоящей из: метионина, аргинина (например, сукцината аргинина), дипептида аргинина, трипептида аргинина, полиаргинина, гомоаргинина, N-гидрокси-L-нор-аргинина, метилового сложного эфира нитроаргинина, аргининамида, аргинин метилового сложного эфира, этилового сложного эфира аргинина, лизина, лизинамида, метилового сложного эфира лизина, гистидина, метилового сложного эфира гистидина, гистамина, аланина, аланинамида, метилового сложного эфира аланина, 2-амино-3-гуанидино-пропионовой кислоты, гуанидина, орнитина, агматина, гуанидиномасляной кислоты, цитруллина, путресцина, кадаверина, спермидина, спермина и мочевины. Согласно некоторым вариантам реализации указанное соединение присутствует в составе в концентрации, составляющей по меньшей мере 10 mM, по меньшей мере 20 mM, по меньшей мере 50 mM или по меньшей мере 100 mM. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное соединение присутствует в составе в концентрации, составляющей от приблизительно 10 mM до 1 M. Согласно дополнительным вариантам реализации общая концентрация белка, присутствующего в составе, составляет по меньшей мере 50 мг/мл, по меньшей мере 75 мг/мл, по меньшей мере 100 мг/мл, по меньшей мере 150 мг/мл, по меньшей мере 200 мг/мл или по меньшей мере 250 мг/мл.

Схема дозирования и эффективные количества для терапевтического и профилактического применения, т.е. "режим дозирования", зависит от разнообразных факторов, включающих причину, стадию и тяжесть заболевания или расстройства, состояние здоровья, физический статус, возраст млекопитающего, лечение которого проводят, а также область и способ доставки MRD-содержащего антитела. Терапевтическая эффективность и токсичность комплекса и структуры могут быть определены с помощью стандартных фармацевтических, фармакологических и токсикологических процедур в клеточных культурах или у экспериментальных животных. Данные, полученные в результате указанных процедур, могут использоваться также и при определении диапазона дозирования для применения у человека. Кроме того, с применением известных процедур может быть легко определен терапевтический индекс (т.е. отношение дозы, терапевтически эффективной у 50% популяции, к дозе, летальной для 50% популяции (ED_{50}/LD_{50})). Дозировка предпочтительно находится в пределах диапазона концентраций, который включает ED_{50} с незначительной токсичностью или без токсичности, и может варьировать в пределах указанный диапазон в зависимости от используемой лекарственной формы, чувствительности пациента и способа введения. Режим дозирования должен также учитывать известные в данной области техники фармакокинетические параметры, такие как скорость абсорбции, биодоступность, метаболизм и клиренс лекарственного средства (см., например, Hidalgo-Aragones, J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 58:611-617 (1996); Groning et al., Pharmazie 51:337-341 (1996); Fotherby Contraception 54:59-69 (1996); и Johnson et al., J. Pharm. Sci. 84:1144-1146 (1995)). В данной области техники хорошо известны способы определения лечащим врачом режима дозирования для каждого получающего лечение субъекта. Кроме того, композиции, содержащие мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело) могут вводиться однократно или многократно в зависимости от необходимых и переносимых субъектом дозировки и частоты введения. Продолжительность профилактического и терапевтического лечения варьирует в зависимости от конкретного заболевания или состояния, лечение которого проводят. Для некоторых заболеваний подходит кратковременное лечение, тогда как другие требуют длительной терапии в течение продолжительного времени. При лечении дополнительным терапевтическим агентом MRD-содержащее антитело может вводиться последовательно или одновременно с указанным дополнительным терапевтическим агентом.

Терапевтически эффективные количества MRD-содержащего антитела согласно настоящему изобретению варьируют в зависимости, например, от мишеней MRD-содержащего антитела и активности конъюгированных цитотоксических агентов, охваченных различными вариантами реализации настоящего изобретения. Таким образом, например, терапевтически эффективная доза мультивалентной и моно-

валентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), которое "впитывает" растворимый лиганд, такой как ФНО-альфа, предположительно будет выше, чем терапевтически эффективная доза мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), которое перенаправляет эффекторную функцию Т-клеток на мишень на гематологическом злокачественном новообразовании. Аналогичным образом, терапевтически эффективные количества мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), содержащий майтансиноидный цитотоксический агент, предположительно будут ниже, чем дозировка мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела), содержащего менее активное химиотерапевтическое средство, такое как таксол, или аналогичной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, которая не содержит цитотоксического агента.

В соответствии с одним вариантом реализации терапевтически эффективная доза мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) представляет собой количество, выбранное из приблизительно 0,00001 мг/кг - приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 0,00001 мг/кг - приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 0,00001 мг/кг - приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 0,0001 мг/кг - приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 0,0001 мг/кг - приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 0,0001 мг/кг - приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 0,001 мг/кг - приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 0,001 мг/кг - приблизительно 10 мг/кг, и приблизительно 0,001 мг/кг - приблизительно 5 мг/кг массы тела пациента, в виде одной или нескольких доз, вводимых ежедневно, на протяжении одного или нескольких дней.

В соответствии с другим вариантом реализации терапевтически эффективное количество мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) представляет собой количество, достаточное для обеспечения при введении в физиологически переносимом составе достигается концентрации в плазме, составляющей от приблизительно 0,1 микрограммов (мкг) на миллилитр (мл) до приблизительно 100 мкг/мл, от приблизительно 1 мкг/мл до приблизительно 5 мкг/мл, и обычно приблизительно 5 мкг/мл. Иными словами, согласно еще одному варианту реализации дозировка может варьировать от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 300 мг/кг, от приблизительно 0,2 мг/кг до приблизительно 200 мг/кг, от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг в виде одной или нескольких доз, вводимых ежедневно на протяжении одного или нескольких дней.

Согласно некоторым вариантам реализации мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело) вводят в дозе от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг, от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг, от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг, от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 15 мг/кг, от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, или от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг.

Согласно дополнительным вариантам реализации дозы указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) вводят примерно один раз сутки, примерно два раза в неделю, примерно еженедельно, примерно один раз в две недели или примерно каждые три недели. Согласно некоторым вариантам реализации сначала вводят более высокую нагрузочную дозу мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, а затем вводят более низкую поддерживающую дозу. Согласно дополнительным вариантам реализации терапевтические композиции, предложенные в настоящем изобретении, содержат мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) в количестве, составляющем по меньшей мере 0,1% антитела по массе от общей массы терапевтической композиции. Процент по массе представляет собой отношение массы антитела к общей массе композиции. Соответственно, например, 0,1 % по массе составляет 0,1 г антитела-MRD на 100 г композиции. Согласно некоторым вариантам реализации терапевтическая композиция, содержащая мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию, содержит от приблизительно 10 микрограммов (мкг) антитела на миллилитр (мл) до приблизительно 100 микрограммов (мг) антитела на мл в качестве активного ингредиента в объеме композиции. Согласно дополнительным вариантам реализации терапевтическая композиция, содержащая мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию, содержит от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл (т.е. приблизительно 0,1-1 % по массе) антитела в качестве активного ингредиента в объеме композиции.

Как показывают примеры в настоящем документе, мультивалентная и мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) может иметь профиль ФК, аналогичный соответствующему антителу. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации антитело-MRD вводят в соответствии с дозирующими концентрациями и режимом дозирования, совпадающими с дозировками и режимом для антитела-компонента молекулы антитела-MRD по отдельности (например, для коммерческого антитела или его так называемого "биосимиляра" или "биопревосходного" средства). Также мультивалентная и мультиспецифическая композиция может иметь профиль ФК, отличный от профиля соответствующего антитела. Например, согласно вариантам реализации, где мультивалентные и мультиспецифические композиции перенаправляют Т-клеточный ответ и/или включают цитотоксический агент, дозирующая концентрация предположительно будет меньше, чем для соответствующего антитела. В

указанных случаях терапевтически эффективные дозирующие концентрации и режимы дозирования для указанных композиций могут быть определены рутинным образом с применением параметром и критериев, известных в данной области техники. В составы с мультивалентными и мультиспецифическими композициями (например, MRD-содержащими антителами) не должны, но могут, необязательно, входить один или большее количество агентов, в настоящее время применяемых для предотвращения или лечения расстройства, представляющего интерес. Эффективное количество таких других агентов зависит от количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, присутствующей в составе, типа расстройства или лечения, и других факторов, обсуждаемых выше.

Согласно обсуждению выше, подходящая дозировка указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) зависит от типа заболевания, лечение которого проводится, согласно описанию выше, тяжести и течения заболевания, предшествующей терапии, клинической истории пациента и выбора лечащего врача. Мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию подходящим образом вводят пациенту однократно или периодически на протяжении курса лечения. Предпочтительно, мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят путем внутривенной инфузии или подкожных инъекций. Согласно некоторым вариантам реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят парентерально путем инъектирования или постепенной инфузии в течение периода времени. Хотя оценка целевой молекулы в организме может, как правило, быть проведена при системном введении и, соответственно, чаще всего лечение проводят путем внутривенного введения терапевтических композиций, предусмотрены и другие ткани и способы доставки, если существует вероятность, что целевая ткань содержит целевую молекулу. Соответственно, мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция может вводиться внутривенно, внутривенно, внутримышечно, подкожно, внутримышечным путем, чрескожно, и может доставляться периферически. Мультивалентные и мультиспецифические композиции могут также доставляться в виде аэрозоля в дыхательные пути и легкие. Согласно некоторым вариантам реализации молекулу антитела-MRD вводят путем внутривенной инфузии. Согласно некоторым вариантам реализации указанную молекулу антитела-MRD вводят путем подкожной инъекции.

Терапевтические композиции, содержащие мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело) может вводиться внутривенно обычным способом, например, путем инъекции единицы дозы. Термин "единица дозы" в отношении терапевтической композиции согласно настоящему изобретению относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичной дозированной формы для пациента, причем каждая единица содержит заданное рассчитанное количество активного материала для получения требуемого терапевтического эффекта, связанное с требуемым разбавителем, т.е. носителем или основой. Согласно конкретному варианту реализации указанный терапевтический композиции, содержащие моноклональное антитело человека или полипептид, вводят подкожно.

Композиции, предложенные в настоящем изобретении, вводят совместимым с лекарственной формой способом в терапевтически эффективном количестве. Количество для введения зависит от пациента, лечение которого проводят, способности систем пациента утилизировать активный ингредиент и уровня требуемого терапевтического эффекта. Точные количества активного ингредиента, которые необходимо ввести, зависят от решения практикующего врача и являются специфическими для каждого индивидуума. Однако подходящие диапазоны доз для системного применения раскрыты в настоящем документе и зависят от способа введения. Подходящие режимы введения также варьируют, однако характерным является начальное введение с введением последующих повторных доз с одним или несколькими часовыми интервалами путем последовательных инъекций или другого способа введения. Как вариант, предусмотрена непрерывная внутривенная инфузия, достаточная для поддержания концентраций в крови в диапазонах, определенных для терапии *in vivo*.

Согласно другим вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, включающий введение терапевтически эффективного количества или профилактически эффективного количества молекулы антитела-MRD нуждающемуся в этом пациенту. Согласно некоторым вариантам реализации указанное заболевание, расстройство или повреждение представляет собой раковое заболевание. Согласно другим вариантам реализации указанное заболевание, расстройство или повреждение представляет собой заболевание или расстройство иммунной системы, такое как воспаление или аутоиммунное заболевание. Ожидается, что мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) обладают по меньшей мере такой же терапевтической эффективностью, как и антитело, содержащееся в MRD-антителе, содержащем антитело, при его отдельном введении. Соответственно, предполагается, что мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) могут вводиться пациенту для лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, при котором антитело, содержащееся в MRD-содержащем антителе, или антитело, которое функционирует таким же образом, что и антитело, содержащееся в MRD-содержащем антителе, демонстрирует приемлемо согласованную благоприятную активность при лечении или предотвращении такие заболевания,

расстройства или повреждения. Указанная благоприятная активность может быть продемонстрирована *in vitro*, в модели на животных *in vivo* или в клинических испытаниях у человека. Согласно одному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят пациенту для лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, при котором антитело-компонент MRD-содержащего антитела, или антитело, которое функционирует таким же образом, что и антитело, содержащееся в MRD-содержащем антителе, демонстрирует терапевтическую или профилактическую эффективность *in vitro* или в модели на животных. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят пациенту для лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, при которых антитело-компонент MRD-содержащего антитела, или антитело, которое функционирует таким же образом, что и антитело, содержащееся в MRD-содержащем антителе, демонстрирует терапевтическую или профилактическую эффективность у человека. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят пациенту для лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, применение при таком лечении или предотвращении которого антитело-компонент указанного MRD-содержащего антитела, или антитело, которое функционирует таким же образом, что и антитело, содержащееся в MRD-содержащем антителе, было одобрено регулирующим органом.

Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с другим терапевтическим средством для лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, при котором антитело-компонент указанного MRD-содержащего антитела, или антитело, которое функционирует таким же образом, что и антитело, содержащееся в MRD-антителе, в комбинации с указанным терапевтическим средством или другим терапевтическим средством, которое функционирует таким же образом, что и терапевтическое средство в указанной комбинации, демонстрирует терапевтическую или профилактическую эффективность *in vitro* или в модели на животных. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с другим терапевтическим средством для лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, при котором антитело-компонент указанного MRD-содержащего антитела, или антитело, которое функционирует таким же образом, что и антитело, содержащееся в MRD-антителе, в комбинации с указанным терапевтическим средством или другим терапевтическим средством, которое функционирует таким же образом, что и терапевтическое средство в указанной комбинации, демонстрирует терапевтическую или профилактическую эффективность у человека. Согласно еще одному варианту реализации MRD-содержащее антитело, вводят в комбинации с другим терапевтическим средством для лечения или предотвращения заболевания, расстройства или повреждения, применение при таком лечении или предотвращении которого антитело-компонента MRD-содержащего антитела, или антитела, которое функционирует таким же образом, что и антитело, содержащееся в MRD-антителе, в комбинации с указанным терапевтическим средством или другим терапевтическим средством, которое функционирует таким же образом, что и терапевтическое средство в указанной комбинации, было одобрено регулирующим органом. Введение MRD-содержащего антитела в комбинации более чем с одним терапевтическим средством согласно описанию выше также охвачено настоящим изобретением.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое способствует апоптозу, ингибирует апоптоз, способствует выживаемости клеток, ингибирует выживаемость клеток, способствует старению пораженных заболеванием или аберрантных клеток, ингибирует старение клеток, способствует пролиферации клеток, ингибирует пролиферацию клеток, способствует клеточной дифференцировке, ингибирует клеточную дифференцировку, способствует активации клеток, ингибирует активацию клеток, способствует клеточный метаболизм, ингибирует клеточный метаболизм, способствует адгезии клеток, ингибирует адгезию клеток, способствует прохождению клеточного цикла или делению клеток, ингибирует прохождение клеточного цикла или деление клеток, способствует репликации или репарации ДНК, ингибирует репликацию или репарацию ДНК, способствует транскрипции или трансляции, или ингибирует транскрипцию или трансляцию.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое способствует апоптозу или старению пораженных заболеванием или аберрантных клеток. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое действует как агонист, действует как антагонист или уменьшает активность:

рЭФР, ErbB2, cMET, ФНО-альфа, ТФР-бета, интегрин $\alpha\text{v}\beta3$,
 TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8, TLR9, TNFR1, TNFRSF10A (TRAIL R1 DR4), TNFRSF10B (TRAIL R2 DR5), ФНО, TRAIL, ИФН-бета, MYC, Ras, BCR, ABL, JNK, CKH2, CHK1, CDK1, RAC1, MEK, MOS, mTOR, AKT, NFkB, Ikk, IAP1, IAP2, XIAP, b-катенина, сурвивина, HDAC, HSP70, HSP90, 20S-протеасомы, топоизомеразы 1, MDM2, E2F или E2F1.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое ингибирует выживаемость клеток. Согласно некоторым вариантам реализации

указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое действует как антагонист или уменьшает активность: ФРЭС, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рИФР-1, ИФР-1, ИФР-2, ТцФР-А, ТцФР-В, ТцФР-СС, ТцФР-С, ТцФР-Д, рТцФР-А, рТцФР-В, трансформирующего ростового фактора альфа (ТРФ-альфа), ТРФ-В3, фосфоинозитид-3-киназы (PI3K), TNFSF13B (BLYS), TNFRSF13C (BAFFR), JNK, ядерный фактор каппа-В (NFκB), SIP, интегрин $\alpha\nu\beta3$ или сурвивина.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует пролиферацию клеток. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое действует как антагонист или уменьшает активность: ФРЭС, рФРЭС-, рЭФР, ErbB2, NFκB, HIF, MUC1, MUC2 или HDAC. В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует адгезию клеток. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое ингибирует или уменьшает активность: MMP1, MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, PLAU, интегрин $\alpha\nu\beta1$, интегрин $\alpha\nu\beta3$, интегрин $\alpha\nu\beta5$, ТФР-бета, EPCAM, интегрин $\alpha1\beta1$, интегрин $\alpha2\beta1$, интегрин $\alpha4\beta1$, интегрин $\alpha2\beta1$, интегрин $\alpha5\beta1$, интегрин $\alpha9\beta1$, интегрин $\alpha6\beta4$, интегрин $\alpha\text{M}\beta2$, РЭА, L1, Mel-CAM или HIF1. Согласно одному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое ингибирует или уменьшает активность интегрин $\alpha\nu\beta3$, интегрин $\alpha\nu\beta5$ или интегрин $\alpha5\beta1$.

Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с: MEDI-522 (VITAXIN, Abegrin; MedImmune), ATN-161 (Attenuon), EMD 121974 (Merck KGaA), CNTO 95 (Cenotocor) или велосиксимабом (M200, Protein Design Labs).

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует активацию клеток. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое способствует, ингибирует или уменьшает активность: CD80, CD86, MHC, PDL2 (B7-DC), B7-H1, B7-H2 (ICOSL), B7-H3, B7-H4, CD28, CTLA4, TCR, PD1, CD80 или ICOS.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует прохождение клеточного цикла, деление клеток или митоз. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое действует как антагонист или уменьшает активность: PI3K, SMO, Ptch, HH, SHH, plk1, plk2, plk3, plk4, aurora A, aurora B, aurora C, CDK1, CDK2, CDK4, CHK1, CHK2, GSK3B, PAK, NEK2A, ROCK 2, MDM2, ЭФР (KSP), 20S-протеасомы, HDAC или сурвивина. В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует репликацию или репарацию ДНК. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое действует как антагонист или уменьшает активность: BRCA1, CHK1, CHK2, E2F, E2FL, MDM2, MDM4 или PARP1.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует транскрипцию или трансляцию. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое действует как антагонист или уменьшает активность: рИФР-1, ИФР-1, ИФР-2, рТцФР-А, рТцФР-В, ТцФР-А, ТцФР-В, ТцФР-СС, ТцФР-С, ТцФР-Д, KIT, MYC, CD28, CDK4, CDK6, mTOR, MDM2, HDAC, E2F, E2F1 или HIF1.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует миграцию, инвазивность или метастазирование. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое ингибирует или уменьшает активность: c-MET, RON, CXCR4, PI3K, AKT, MMP2, FN1, CATHD, AMF, интегрин $\alpha\nu\beta1$, интегрин $\alpha\nu\beta3$, интегрин $\alpha\nu\beta5$, ТФР-бета, интегрин $\alpha1\beta1$, интегрин $\alpha2\beta1$, интегрин $\alpha4\beta1$, интегрин $\alpha2\beta1$, интегрин $\alpha5\beta1$, интегрин $\alpha9\beta1$, интегрин $\alpha6\beta4$, интегрин $\alpha\text{M}\beta2$ или HIF1.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое регулирует клеточный метаболизм. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с соединением, которое ингибирует или уменьшает активность: ErbB2, рЭФР, рИФР-1, ИФР-1, ИФР-2, ТРФ-альфа, ICOS, PI3K, рФРЭС-1, рФРЭС-2, mTOR, HIF1 или HDAC.

В соответствии с одним вариантом реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором одной или большего количества протеинкиназ. Согласно одному варианту реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень MRD-содержащего антитела (например, посредством одного или большего количества доменов MRD либо антитела MRD-содержащего антитела). Согласно альтернативному варианту реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует протеинкиназу, которая не является мишенью MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует одну протеинкиназу. Согласно другим вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует более одной протеинкиназы.

Согласно некоторым вариантам реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором (например, малой молекулой, антителом и т.д.) протеинкиназы, выбранным из:

рЭФР, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIС), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIа, рФРФ-2-IIIб и рФРФ-2-IIIв), рФРФ-3, ErbB2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, Tie-2, рецептор ТцФР, рТцФР-В, RON и с-Met.

Согласно другим вариантам реализации указанный ингибитор ингибирует протеинкиназу, которая не является мишенью MRD-содержащего антитела. Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором одной или большего количества протеинкиназ, выбранным из:

рЭФР, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) (например, рФРФ-1-IIIС), рФРФ-2 (например, рФРФ-2-IIIа, рФРФ-2-IIIб и рФРФ-2-IIIв), рФРФ-3, ErbB2, рФРЭС-1, рФРЭС-2, рФРЭС-3, Tie-2, рТцФР-А, рТцФР-В, FIT3, ALK, RET, Kit, raf, p38, RON, с-Met, PI3K, ERK, FAK, AKT, SYK, JAK1, JAK2, JAK3, TYK2, SIP, FAK, PTK7, PKD1, PKA, PKC, PKG, PRKDC, Pim, CDK, plk, p38MAPK, SRC, ABL, FGR, FYN, HCK, LCK, LYN, YES, EPH4, BMK1, ERK5, mTOR, CHK1, CHK2, CSNK1G1, CSNK1G2, CSNK1G3, GSK3, BTK, JNK,

киназы Aurora, киназы Aurora А, киназы Aurora В и киназы Aurora С.

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы, выбранным из: иматиниба мезилата (например, GLEEVEC™), гефитиниба (например, IRES SA™, Astra Zeneca), вандетаниба (например, ZACTIMA™, Astra Zeneca), эрлотиниба (например, TARCEVA™, Genentech/OSI), сунитиниба (например, SUTENT™, Pfizer), лапатаниба (GSK) и сорафениба (например, NEXAVAR™, Bayer). Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы, выбранным из: нилотиниба (например, AMN107, Novartis), дазатиниба (например, BMS 354825, BMS), ABT-869, ботсутиниба (например, SKI-606, Wyeth), цедираниба, рецентиниба, кальпастатина, AEE788 (Novartis), AZD0530 (AstraZeneca) Exel 7646/Exel 0999 Exelixis), кабозантиниба (например, XL184; Exelixis), XL880/GSK1363089 (Exelixis/GSK), ARQ-197 (Arqule и Daiichi Sankyo), Inno-406 (Innovive), SGS523 (SGX), PF-2341066 (Pfizer), CI-1033 (Pfizer), мотесаниба (например, AMG-706, Amgen), AG-013736 (Axitinib), AMG-705 (Amgen), пегаптаниба (OSI/Pfizer), лестауртиниба, руксолитиниба, SB1518, CYT387, LY3009104, TG101348 JANEX-1, тофацитиниба (Pfizer), INCB18424, LFM-A13, пазопаниба (например, GW786034B, GlaxoSmithKline), GW-572016, EKB-569 (Wyeth-Ayerst), ваталаниба (например, PTK787/ZK), AZD2171, MK-0457 (VX-680, Merck), PHA 739358 (Nerviano), мубритиниба (Takeda), E7080 (Eisai), фостаматиниба (Rigel/AstraZeneca), SGX523, SNS-032 (Sunesis), XL143, SNS-314 (Sunesis), SU6668 (Pfizer), AV-951 (AVEO), AV-412 (AVEO), тивизаниба (AVEO), PX-866 (Oncothreon), канертиниба (CI-1033), NSC 109555, VRX0466617, UCN-01, ингибитора CHK2 II, EXEL-9844, XL844, CBP501, PF-004777736, дибромхимериалдизина, Go6976, AEG3482, цедираниба (например, RECENTIN™, AstraZeneca), семаксаниба (SU5416), SU5616, CGP,53716, мастиниба и ZD6474 (AstraZeneca).

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы рФРФ, выбранным из: сунитиниба, SU5402, PD173074, TKI258 (Novartis), BIBF 1120 (Boehringer Ingelheim), бриваниба (BMS-582,664), E7080 (Eisai) и TSU-68 (Taiho).

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы JAK1, JAK2, JAK3, или SYK. Согласно дополнительному варианту реализации указанный ингибитор протеинкиназы выбран из: лестауртиниба, тофацитиниба, руксолитиниба, SB1518, CYT387, LY3009104, TG101348, фостаматиниба, BAY 61-3606 и сунитиниба. Согласно одному варианту реализации ErbB2 (HER2) связывающее MRD-содержащее антитело (например, MRD-связывающее антитело, которое связывает ErbB2 посредством одного или большего количества доменов MRD либо антитела MRD-содержащего антитела) вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы ErbB2. Согласно другому специфическому варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела трастузумаба вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы ErbB2. Согласно одному варианту реализации связывающее ErbB2 MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с лапатинибом. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела трастузумаба вводят в комбинации с лапатинибом. Согласно одному варианту реализации связывающее ErbB2 MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с сунитинибом. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела трастузумаба вводят в комбинации с сунитинибом. Согласно одному варианту реализации связывающее ErbB2 MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с нератинибом. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела трастузумаба вводят в комбинации с нератинибом. Согласно одному варианту реализации связывающее ErbB2 MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с лапатинибом. Согласно конкретному

му варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела трастузумаба вводят в комбинации с лапатинибом. Согласно дополнительному варианту реализации связывающее ErbB2 (HER2) MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы, выбранным из: канертиниба (GW-572016), AV-412 (AVEO), тивозаниба (AVEO), вандетаниба (например, ZACTIMA™, AstraZeneca), AEE788 (Novartis), Exel 7646/Exel 0999 (Exelixis), CI-1033 (Pfizer) и EKB-569 (Wyeth-Ayerst). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела трастузумаба вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы, выбранным из: канертиниба (GW-572016), AV-412 (AVEO), тивозаниба (AVEO), вандетаниба (например, ZACTIMA™, AstraZeneca), AEE788 (Novartis), Exel 7646/Exel 0999 (Exelixis), CI-1033 (Pfizer), PX-866 (Oncothyreon) и EKB-569 (Wyeth-Ayerst).

Согласно еще одному варианту реализации связывающее рЭФР MRD-содержащее антитело (например, MRD-связывающие антитело, которое связывает рЭФР посредством одного или большего количества доменов MRD либо антитела MRD-содержащего антитела) вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы рЭФР. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела цетуксимаба вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы рЭФР. Согласно одному варианту реализации связывающее рЭФР MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с гефитинибом (например, IRESSA™, AstraZeneca). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела цетуксимаба вводят в комбинации с гефитинибом (например, IRESSA™, AstraZeneca). Согласно одному варианту реализации связывающее рЭФР MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с эрлотинибом (например, TARCEVA™, Genentech/OSI). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела цетуксимаба вводят в комбинации с эрлотинибом (например, TARCEVA™, Genentech/OSI). Согласно одному варианту реализации связывающее рЭФР MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с лапатинибом. Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела цетуксимаба вводят в комбинации с лапатинибом. Согласно одному варианту реализации связывающее рЭФР MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с сорафенибом (например, NEXAVAR™, Bayer). Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела цетуксимаба вводят в комбинации с сорафенибом (например, NEXAVAR™, Bayer). Согласно еще одному варианту реализации связывающее рЭФР MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы, выбранным из: канертиниба (GW-572016), ZD6474, AV-412 (AVEO), тивозаниба (AVEO), вандетаниба (ZACTIMA, AstraZeneca), AEE788 (Novartis), Exel 7646/Exel 0999 (Exelixis), CI-1033 (Pfizer) и EKB-569 (Wyeth-Ayerst).

Согласно конкретному варианту реализации MRD-содержащее антитело на основе антитела цетуксимаба вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы, выбранным из: канертиниба (GW-572016), ZD6474, AV-412 (AVEO), тивозаниба (AVEO), вандетаниба (ZACTIMA, AstraZeneca), AEE788 (Novartis), Exel 7646/Exel 0999 (Exelixis), CI-1033 (Pfizer), PX-866 (Oncothyreon) и EKB-569 (Wyeth-Ayerst). Согласно одному варианту реализации связывающее ФРЭС-А, рФРЭС-1 или рецептор ФРЭС-2 MRD-содержащее антитело (например, MRD-связывающие антитело, которое связывает рФРЭС-1 посредством одного или большего количества доменов MRD либо антитела MRD-содержащего антитела) вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы VEGR1, рецептора ФРЭС-2 или рФРЭС-3. Согласно одному варианту реализации связывающее ФРЭС-А, рФРЭС-1 или рФРЭС-г2 MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с: сунитинибом, сорафенибом, пазопанибом (например, GW786034B), AZD2171, ваталанибом, ZD6474, AMG-706 или AC013736.

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором протеасомы. Согласно конкретному варианту реализации указанный ингибитор представляет собой бортезомиб (например, VELCADE™). Согласно еще одному конкретному варианту реализации указанный ингибитор представляет собой PR-171 (Proteolix).

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором HDAC.

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором mTOR.

Согласно дополнительному варианту реализации MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с ингибитором NFκB.

Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего ФРЭС-А или рФРЭС MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рака толстой и прямой кишки путем введения терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему раком толстой и прямой кишки. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рака молочной железы путем введения терапевтически эффективно-

го количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему раком молочной железы. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения немелкоклеточного рака легких путем введения терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему немелкоклеточным раком легких. Согласно другим вариантам реализации терапевтически эффективные количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, вводят пациенту для лечения метастатического рака толстой и прямой кишки, метастатического рака молочной железы, метастатического рака поджелудочной железы или метастатического немелкоклеточного рака легких. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания путем введения терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему почечноклеточной карциномой, мультиформной глиобластомой, раком яичника, раком предстательной железы, раком печени или раком поджелудочной железы.

Комбинированная терапия и комбинированные композиции, включающие мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) согласно настоящему изобретению и другое терапевтическое средство, также охвачены настоящим изобретением, как и способы лечения с применением указанных композиций. Согласно другим вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, вводят отдельно или в комбинации с одним или большим количеством дополнительных терапевтических агентов. Комбинации могут вводиться либо одновременно, например, в виде смеси; по отдельности, но одновременно или параллельно; или последовательно. Сюда включены системы, в которых указанные комбинированные агенты вводят совместно в виде терапевтической смеси, а также процедуры, в ходе которых комбинированные агенты вводят по отдельности, но одновременно, например, через отдельные внутривенные катетеры одному индивидууму. Введение "в комбинации" также включает раздельное введение, когда один из терапевтических соединений или агентов вводят первым, а затем вводят второй. Соответственно, согласно одному варианту реализации связывающее ФРЭС-А или рФРЭС MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с 5-фторурацилом, карбоплатином, паклитакселем или интерфероном альфа. Согласно еще одному варианту реализации бевацизумаб, содержащий по меньшей мере один MRD, вводят в комбинации с 5-фторурацилом, карбоплатином, паклитакселем или интерфероном альфа.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего ФРЭС-А или рФРЭС MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества ранибизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего ErbB2 (HER2) MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно различным вариантам реализации связывающие ErbB2 мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациентам, которые, как было показано, ранее отвечали на другую терапию на основе ErbB2 (например, Герцептин, химиотерапию и/или лучевую терапию), или пациентам, которые, согласно прогнозу, будут отвечать на другую терапию на основе ErbB2. Согласно другим вариантам реализации указанные связывающие ErbB2 мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациентам, которые ранее не отвечали на другую терапию на основе ErbB2, или пациентам, которые, согласно прогнозу, не будут отвечать на другую терапию на основе ErbB2.

Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества трастузумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рака молочной железы путем введения терапевтически эффективного количества трастузумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему раком молочной железы. Согласно другим вариантам реализации терапевтически эффективные количества трастузумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, вводят пациенту для лечения метастатического рака молочной железы.

Согласно еще одному варианту реализации связывающее ErbB2 (HER2) MRD-содержащее антитело вводят в комбинации с циклофосфамидом, паклитакселем, доцетакселем, карбоплатином, антрациклином или майтансиноидом. Согласно конкретному варианту реализации трастузумаб, содержащий по меньшей мере один MRD, вводят в комбинации с циклофосфамидом, паклитакселем, доцетакселем, карбоплатином, антрациклином или майтансиноидом.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения

ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего CD20 MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения гематологического рака, включающий введение терапевтически эффективного количества ритуксимаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения CD20-положительной НХЛ путем введения терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему CD20-положительной НХЛ. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения CD20-положительного ХЛЛ путем введения терапевтически эффективного количества бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему CD20-положительным ХЛЛ.

Согласно другим вариантам реализации терапевтически эффективное количество связывающего CD20 MRD-содержащего антитела вводят в комбинации с: флударабином, циклофосфамидом, FC (флударабин и циклофосфамид), программой химиотерапии на основе антрациклина (например, CHOP (циклофосфамид, адриамицин, винкристин и преднизон)) или химиотерапией CVP (циклофосфамид, преднизон и винкристин). Согласно конкретному варианту реализации терапевтически эффективное количество бевацизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, вводят в комбинации с: флударабином, циклофосфамидом, FC (флударабин и циклофосфамид), программой химиотерапии на основе антрациклина (например, CHOP (циклофосфамид, адриамицин, винкристин и преднизон)) или химиотерапией CVP (циклофосфамид, преднизон, и винкристин). Любые гибриды антитело-MRD содержащих антител и/или доменов MRD, которые связывают CD20, могут применяться в соответствии со способами лечения расстройства, связанного с CD20, или расстройства, лечение которого может проводиться путем направленного воздействия на клетки, экспрессирующие CD20 (например, гематологических раковых заболеваний и аутоиммунных заболеваний). Согласно некоторым вариантам реализации антитело-компонент гибрида антитело-MRD выбран из ритуксимаба, окрелизумаба, GA101 и PF-5230895. В настоящем изобретении также предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает мишень, выбранную из: CD20, TNFRSF5 (CD40), CD45RB, CD52, CD200, CCR2, рецептора фактора активации тромбоцитов (PAFR), pИЛ-6, TNFRSF1A, VLA4, колониестимулирующего фактора 2 (CSF2), TNFSF5 (лиганд CD40), TLR2, TLR4, GPR44, FASL, TREM1, ИЛ-1, ИЛ-1-бета, pИЛ-1N, тканевого фактора, MIF, MIP2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, ФНО, TNFSF12 (TWEAK), ЛПС, CXCL13, ФРЭС, ИФН-альфа, ИФН-гамма, ГМКСФ, ФРФ, ТФР-бета, C5 и CCR3. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно конкретным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела, которое связывает ФНО и ANG2.

Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела, которое связывает ИЛ-1, ИЛ-12 и ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-1, ИЛ-12, ФНО и ANG2.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО и ANG2, мишень, выбранную из:

CD20, TNFRSF5 (CD40), CD45RB, CD52, CD200, CCR2, PAFR, pИЛ-6, TNFRSF1A, VLA4, CSF2, TNFSF5 (лиганд CD40), TLR2, TLR4, GPR44, FASL, TREM1, ИЛ-1, ИЛ-1-бета, pИЛ-1N, тканевого фактора, MIF, MIP2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, ФНО, TNFSF12 (TWEAK), ЛПС, CXCL13, ФРЭС, ИФН-альфа, ИФН-гамма, ГМКСФ, ФРФ, ТФР-бета, C5 и CCR3.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела. Согласно конкретному варианту реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает мишень, выбранную из:

CD1C, CD3, CD4, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD28, CD37, CD38, CD45RB, CD52, CD69, CD72, CD74, CD75, CD79A, CD79B, CD80, CD81, CD83, CD86, CD200, pИЛ-2A, pИЛ-12, pИЛ-6, VLA4, HLA-DRA, HLA-A, интегрин альфа-2 (ITGA2), интегрин альфа-3 (ITGA3), колониестимулирующего фактора -2 (CSF2), TLR2, TLR4, GPR44, TREM1, TIE2, ФНО, FASL, тканевого фактора, MIF, MIP2, ИЛ-1, ИЛ-1-бета, pИЛ-1N, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, TNFRSF1A, TNFRSF5 (CD40), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF7 (CD27), TNFRSF8 (CD30), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFSF12 (TWEAK), TNFSF13B (BLyS), ANG2, ICOSL (B7-H2), MS4A1, ИФН-альфа, ИФН-бета-1, ИФН-гамма, TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), PAFR, ингибина альфа (INHА), ингибина бета-А (INHBA), дипептидилпептидазы-4 (DPP4), 5'-нуклеотидазы (NT5E), CTLA4, B7.1/B7.2, ЛПС, ФРЭС, ГМКСФ, ФРФ, C5, CXCL13, CXCR4, CCR2 и CCR3.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят для лечения ревматоидного артрита, и мультивалентные и мультиспецифические композиции связывают мишень, выбранную из:

CD19, CD20, CD45RB, CD52CD200, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, ФНО, TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF13B (BLyS), ФРЭС, VLA4, ИФН-гамма, ИФН-альфа, ГМКСФ, ФРФ, C5, CXCL13 и CCR2.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят для лечения системной красной волчанки, и мультивалентные и мультиспецифические композиции связывают ИФН-альфа и TNFSF13B (BLyS). Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят для лечения рассеянного склероза, и мультивалентные и мультиспецифические композиции связывают мишень, выбранную из:

ANG2, ИЛ-1, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-23, CXCL13, ФНО, TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), ФРЭС, VLA4, ФНО, CD45RB, CD200, ИФН-гамма, ГМ-КСФ, ФРФ, C5, CD52, TNFRSF1A, TNFRSF5 (CD40), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF7 (CD27), TNFRSF8 (CD30), TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFRSF21 (DR6), TNFSF12 (TWEAK), TNFSF13B (BLyS), ANG2, AGE (S100 A, амфотерин), ICOSL (B7-H2), MS4A1, ИФН-альфа, ИФН-бета-1, ИФН-гамма, TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), MCP1, CCR2 и CXCL13.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции, которые связывают по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением.

Согласно дополнительному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего CD20 MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего CD20 MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества ритуксимаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ревматоидного артрита, включающий введение терапевтически эффективного количества ритуксимаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения системной красной волчанки, включающий введение терапевтически эффективного количества ритуксимаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рассеянного склероза, включающий введение терапевтически эффективного количества ритуксимаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно дополнительному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ ле-

чения аутоиммунного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества окрелизумаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ревматоидного артрита, включающий введение терапевтически эффективного количества окрелизумаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения системной красной волчанки, включающий введение терапевтически эффективного количества окрелизумаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рассеянного склероза, включающий введение терапевтически эффективного количества окрелизумаб-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества PF5230895-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ревматоидного артрита, включающий введение терапевтически эффективного количества PF5230895-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения системной красной волчанки, включающий введение терапевтически эффективного количества PF5230895-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рассеянного склероза, включающий введение терапевтически эффективного количества PF5230895-MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела, которое связывает CD20. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает CD20 и мишень, выбранную из:

ФНО, TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF1A, CD45, RB, CD52, CD200, CCR2, PAFR, pIL-6, VLA4, CSF2, RAGE, TLR2, TLR4, GPR44, FASL, TREM1, TIE2, тканевого фактора, MIF, MIP2, ЛПС, ИЛ-1, ИЛ-1-бета, pIL-1N, ИЛ-6, pIL-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, CXCL13, ФРЭС, ИФН-альфа, ИФН-гамма, ГМКСФ, ФРФ, C5 и CCR3.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают CD20 и также связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD20. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела представляет собой ритуксимаб, окрелизумаб, GA101 или PF-5230895. Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела, которое связывает CD20. Согласно конкретному варианту реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает CD20 и мишень, выбранную из:

CD1C, CD3, CD4, CD19, CD21, CD22, CD23, CD24, CD28, CD37, CD38, CD45RB, CD52, CD69, CD72, CD74, CD75, CD79A, CD79B, CD80, CD81, CD83, CD86, CD200, pIL-2A, pIL-12, pIL-6, VLA4, HLA-DRA, HLA-A, ITGA2, ITGA3, CSF2, TLR2, TLR4, GPR44, TREM1, TIE2, ФНО, FASL, тканевого фактора, MIF, MIP2, ИЛ-1, ИЛ-1-бета, pIL-1N, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, TIE2, TNFRSF1A, TNFRSF5 (CD40), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF7 (CD27), TNFRSF8 (CD30), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFSF12 (TWEAK), TNFSF13B (BLyS), ANG2, ICOSL (B7-H2), MS4A1, ИФН-альфа, ИФН-бета-1, ИФН-гамма, TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), PAFR, INHA, INHBA, DPP4, NT5E, CTLA4, B7.1/B7.2, ЛПС, ФРЭС, ГМКСФ, ФРФ, C5, CXCL13, CXCR4, CCR2 и CCR3.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят для лечения ревматоидного артрита, и указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции связывают CD20 и мишень, выбранную из: CD19, CD45RB, CD52, CD200, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, ФНО, TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), ФРЭС, VLA4, ИФН-гамма, интерферон альфа, ГМКСФ, ФРФ, C5, CXCL13 и CCR2. Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и

мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят для лечения рассеянного склероза, и мультивалентные и мультиспецифические композиции связывают CD20 и мишень, выбранную из:

ANG2, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-23, CXCL13, TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), ФРЭС, VLA4, ФНО, CD45RB, CD200, ИФН-гамма, ГМ-КСФ, ФРФ, C5, CD52, TIE2, TNFRSF1A, TNFRSF5 (CD40), TNFRSF 6 (Fas, CD95), TNFRSF 7 (CD27), TNFRSF 8 (CD30), TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFRSF21 (DR6), TNFSF12 (TWEAK), TNFSF13B (BLyS), ICOSL (B7-H2), MS4A 1, ИФН-альфа, ИФН-бета-1, ИФН-гамма, TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), CCR2 и CXCL13.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции, которые связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела выбран из ритуксимаб, окрелизумаб, GA101 и PF-5230895.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества ФНО-связывающего MRD-содержащего антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно различным вариантам реализации ФНО-связывающие мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациентам, которые, как было показано, ранее отвечали на другую терапию на основе ФНО, или пациентам, которые, согласно прогнозу, будут отвечать на другую терапию на основе ФНО (например, антагонистами ФНО, такими как анти-ФНО препараты (например, Хумира), EMBREL, антагонистами CD28, антагонистами CD20 и антагонистами ИЛ-6/рИЛ-6). Согласно другим вариантам реализации указанные связывающие ФНО мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациентам, которые ранее не отвечали на другую терапию на основе ФНО, или пациентам, которые, согласно прогнозу, не будут отвечать на другую терапию на основе ФНО.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела, которое связывает ФНО.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает ФНО и мишень, выбранную из:

CD20, TNFRSF5 (CD40), CD45RB, CD52, CD200, CCR2, PAFR, рИЛ-6, TNFRSF1A, VLA4, CSF2, TNFSF5 (лиганд CD40), TLR2, TLR4, GPR44, FASL, TREM1, ИЛ-1, ИЛ-1-бета, рИЛ-1N, тканевого фактора, MIF, MIP2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, TNFSF12 (TWEAK), ЛПС, CXCL13, ФРЭС, ИФН-гамма, ГМКСФ, FGF, C5 и CCR3.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают ФНО и по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела выбран из адалимумаба, цертолизумаба, голимумаба и AME-527.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела, которое связывает ФНО. Согласно конкретному варианту реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело связывает ФНО и мишень, выбранную из:

CD1C, CD3, CD4, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD28, CD37, CD38, CD45RB, CD52, CD69, CD72, CD74, CD75, CD79A, CD79B, CD80, CD81, CD83, CD86, CD200, pИЛ-2A, pИЛ-12, pИЛ-6, VLA4, HLA-DRA, HLA-A, ITGA2, ITGA3, CSF2, TLR2, TLR4, GPR44, TREM1, TIE2, FASL, тканевого фактора, MIF, MIP2, ИЛ-1, ИЛ-1-бета, pИЛ-1N, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, TIE2, TNFRSF1A, TNFRSF5 (CD40), TNFRSF6 (Fas, CD95), TNFRSF7 (CD27), TNFRSF8 (CD30), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF6 (лиганд Fas), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFSF12 (TWEAK), TNFSF13B (BLyS), ANG2, ICOSL (B7-H2), MS4A1, ИФН-альфа, ИФН-бета-1, ИФН-гамма, TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), PAFR, INHA, INHBA, DPP4, NT5E, CTLA4, B7.1/B7.2, ЛПС, ФРЭС, ГМКФС, ФРФ, C5, CXCL13, CXCR4, CCR2 и CCR3.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят для лечения ревматоидного артрита, и указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции связывают ФНО и мишень, выбранную из:

CD19, CD20, CD45RB, CD52, CD200, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF13B (BLyS), ФРЭС, VLA4, ИФН-гамма, интерферон альфа, ГМКФС, ФРФ, C5, CXCL13 и CCR2.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят для лечения рассеянного склероза, и указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции связывают ФНО и мишень, выбранную из:

ANG2, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-23, CXCL13, TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганд CD40), ФРЭС, VLA4, ФНО, CD45RB, CD200, ИФН-гамма, ГМКФС, ФРФ, C5, CD52, TNFRSF1A, TNFRSF5 (CD40), TIE2, TNFRSF 6 (Fas, CD95), TNFRSF 7 (CD27), TNFRSF 8 (CD30), TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF13C (BAFFR), TNFSF5 (лиганд CD40), TNFSF6 (Fas Лиганд), TNFSF8 (лиганд CD30), TNFRSF21 (DR6), TNFSF12 (TWEAK), TNFSF13B (BLyS), ICOSL (B7-H2), MS4A1, ИФН-альфа, ИФН-бета-1, ИФН-гамма, TNFSF7 (лиганд CD27, CD70), CCR2 и CXCL13.

Мультивалентные и мультиспецифические композиции, которые связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает ФНО. Согласно дополнительным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела выбран из адалимумаба, цертолизумаба, голимумаба и АМЕ-527. Согласно другим вариантам реализации указанные связывающие ФНО мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациентам, ранее, как было показано, отвечавшим на терапию аутоиммунного заболевания, или пациентам, которые, согласно прогнозу, будут отвечать на другую терапию аутоиммунного заболевания (например, антагонистами ФНО, такими как анти-ФНО препараты (например, Хумира®), ENBREL®, антагонистами CD28, антагонистами CD20, антагонистами BLyS и антагонистами ИЛ-6/pИЛ-6). Согласно другим вариантам реализации указанные связывающие ФНО мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациентам, которые ранее не отвечали на другую терапию аутоиммунного заболевания, или пациентам, которые, согласно прогнозу, не будут отвечать на другую терапию аутоиммунного заболевания.

Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения расстройства иммунной системы, включающий введение терапевтически эффективного количества адалимумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания путем введения терапевтически эффективного количества адалимумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ревматоидного артрита путем введения терапевтически эффективного количества адалимумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения воспалительного расстройства путем введения терапевтически эффективного количества адалимумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту

- 136 -

изобретении предложен способ лечения болезни Крона путем введения терапевтически эффективного количества даклизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения язвенного колита путем введения терапевтически эффективного количества даклизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения псориатического артрита, анкилозирующего спондилита, псориаза или ювенильного идиопатического артрита путем введения терапевтически эффективного количества даклизумаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающемуся в этом пациенту.

Гибридные белки с антителами и MRD, содержащие антитела и/или домены MRD, которые связывают раковые антигены или другие мишени, связанные с возникновением, прогрессированием и/или метастазами раковых заболеваний, описаны в настоящем документе или известны в данной области техники и могут использоваться в соответствии со способами, предложенными в настоящем изобретении, для лечения раковых заболеваний. Согласно конкретным вариантам реализации гибридные белки с антителами и MRD содержат антитело и/или MRD, которые связываются с мишенью, идентифицированной в настоящем документе. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего рЭФР MRD-содержащего антитела, нуждающегося в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества цетуксимаба, содержащего по меньшей мере один MRD, нуждающегося в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания путем введения терапевтически эффективного количества цетуксимаба, содержащего по меньшей мере один MRD пациенту, страдающему раком толстой и прямой кишки. Согласно еще одному варианту реализации терапевтически эффективные количества цетуксимаба, содержащего по меньшей мере один MRD, вводят пациенту для лечения метастатического рака толстой и прямой кишки, метастатического рака молочной железы, метастатического рака поджелудочной железы или метастатического немелкоклеточного рака легких. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания путем введения терапевтически эффективного количества цетуксимаба, содержащего по меньшей мере один MRD, пациенту, страдающему плоскоклеточной карциномой головы и шеи.

Согласно еще одному варианту реализации терапевтически эффективное количество связывающего рЭФР MRD-содержащего антитела вводят в комбинации с иринотеканом, FOLFIRI, химиотерапией на основе платины или лучевой терапией. Согласно конкретному варианту реализации терапевтически эффективное количество цетуксимаба, содержащего по меньшей мере один MRD вводят в комбинации с иринотеканом, FOLFIRI, химиотерапией на основе платины или лучевой терапией.

Согласно определенным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-антитела, описанного в настоящем документе, нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения солидного рака путем введения терапевтически эффективного количества связывающего солидное раковое новообразование MRD-антитела, описанного в настоящем документе (например, MRD-антитела, которое связывает валидированную ассоциированную с солидной опухолью мишень согласно описанию в настоящем документе, нуждающемуся в этом пациенту).

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения солидного рака путем введения терапевтически эффективного количества MRD-антитела, которое связывается с представителем группы, состоящей из: рИФР1, ALK1, p-кадгерина, CRYPTO и интегрина альфа5 b1. Согласно другим вариантам реализации антитело-компонент вводимого MRD-антитела выбрано из: фигитумаба, CP-870893, PF-3 732 010, PF-3446962, волоциксимаба, B1B022 и антитела CRYPTO от Biogen.

Согласно некоторым вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), описанные в настоящем документе, подходят для лечения раковых заболеваний. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложены способы лечения ракового заболевания, включающие введение терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела пациенту (например, пациенту (субъекту), нуждающемуся в лечении). Согласно определенным вариантам реализации указанное раковое заболевание представляет собой раковое заболевание, выбранное из группы, состоящей из рака толстой и прямой кишки, рака поджелудочной железы, рака легкого, рака яичника, рака печени, рака молочной железы, рака головного мозга, рака почки, рака предстательной железы, рака ЖКТ, меланомы, рака шейки матки, рака мочевого пузыря, глиобластомы и рака головы и шеи. Согласно определенным вариантам реализации указанное раковое заболевание представляет собой рак молочной железы. Согласно определенным вариантам реализации указанный пациент представляет собой человека.

Другие примеры раковых заболеваний или злокачественных новообразований, лечение которых

может проводиться с применением MRD-содержащих антител и доменов MRD, включают, не ограничиваясь перечисленными: острый лимфобластный лейкоз детского возраста, острый лимфобластный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, карциному коры надпочечников, гепатоцеллюлярный рак взрослых (первичный), рак печени взрослых (первичный), острый лимфоцитарный лейкоз взрослых, острый миелоидный лейкоз взрослых, болезнь Ходжкина взрослых, лимфома Ходжкина взрослых, лимфоцитарный лейкоз взрослых, неходжкинская лимфома взрослых, первичный рак печени взрослых, саркома мягких тканей взрослых, СПИД-ассоциированную лимфому, СПИД-ассоциированные злокачественные новообразования, рак анального канала, астроцитому, рак желчных протоков, рак мочевого пузыря, рак кости, рак ствола мозга, опухоли головного мозга, рак молочной железы, рак почечной лоханки и мочеточника, (первичную) лимфому центральной нервной системы, лимфому центральной нервной системы, астроцитому мозжечка, астроцитомы головного мозга, рак шейки матки, (первичный) гепатоцеллюлярный рак детского возраста, (первичный) рак печени детского возраста, острый лимфобластный лейкоз детского возраста, острый миелоидный лейкоз детского возраста, рак ствола мозга детского возраста, астроцитому мозжечка детского возраста, астроцитому головного мозга детского возраста, экстракраниальных опухолей клеток зародышевой линии детского возраста, болезнь Ходжкина детского возраста, лимфому Ходжкина детского возраста, глиому гипоталамической области и зрительного пути детского возраста, лимфобластный лейкоз детского возраста, медуллобластому детского возраста, неходжкинскую лимфому детского возраста, опухоли шишковидной железы и супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли детского возраста, первичный рак печени детского возраста, рабдомиосаркому детского возраста, саркому мягких тканей детского возраста, глиому зрительного пути и гипоталамической области детского возраста, хронический лимфолейкоз, хронический миелогенный лейкоз, рак толстой кишки, кожную Т-клеточную лимфому, эндокринную карциному островковых клеток поджелудочной железы, рак эндометрия, эпендимому, эпителиальный рак, рак пищевода, саркому Юинга и связанные с ней опухоли, экзокринный рак поджелудочной железы, экстракраниальную опухоль клеток зародышевой линии, внегонадную опухоль клеток зародышевой линии, внепеченочный рак желчных протоков, рак глаза, рак молочной железы у женщин, болезнь Гоше, рак желчного пузыря, рак желудка, карциноидную опухоль ЖКТ, опухоли ЖКТ, опухоли клеток зародышевой линии, гестационную трофобластическую опухоль, лейкоз ворсистых клеток, рак головы и шеи, гепатоцеллюлярный рак, болезнь Ходжкина, лимфому Ходжкина, гипергаммаглобулинемию, гипофарингеальный рак, рак кишечника, внутриглазную меланому, карциному островковых клеток, рак островковых клеток поджелудочной железы, саркому Капоши, рак почки, рак гортани, рак губ и ротовой полости, рак печени, рак легкого, лимфопролиферативные расстройства, макроглобулинемию, рак молочной железы мужчин, злокачественную мезотелиому, злокачественную тимому, медуллобластому, меланому, мезотелиому, метастатический скрытый первичный плоскоклеточный рак шеи, метастатический первичный плоскоклеточный рак шеи, метастатический плоскоклеточный рак шеи, множественную миелому, множественную миелому/новообразование плазматических клеток, миелодиспластический синдром, миелогенный лейкоз, миелоидный лейкоз, миелопролиферативные расстройства, рак полости носа и придаточных пазух, рак носоглотки, нейробластому, неходжкинскую лимфому при беременности, немеланоцитарный рак кожи, немелкоклеточный рак легкого, скрытый первичный метастатический плоскоклеточный рак шеи, рак ротоглотки, остеосаркому/злокачественную фиброзную саркому, остеосаркому/злокачественную фиброзную гистиоцитому, остеосаркому/злокачественную фиброзную гистиоцитому кости, эпителиальный рак яичника, герминогенную опухоль яичника, опухоль яичника с низким злокачественным потенциалом, рак поджелудочной железы, парапротеинемии, пурпuru, рак парашитовидной железы, рак полового члена, феохромоцитому, опухоль гипофиза, новообразование плазматических клеток/множественную миелому, первичную лимфому центральной нервной системы, первичный рак печени, рак предстательной железы, рак прямой кишки, почечноклеточный рак, рак почечной лоханки и мочеточника, ретинобластому, рабдомиосаркому, рак слюнных желез, саркоидоз, саркомы, синдром Сезари, рак кожи, мелкоклеточный рак легкого, рак тонкой кишки, саркома мягких тканей, плоскоклеточный рак шеи, рак желудка, супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли и опухоли шишковидной железы, Т-клеточную лимфому, рак яичка, тимому, рак щитовидной железы, переходноклеточный рак почечной лоханки и мочеточника, переходный рак почечной лоханки и мочеточника, трофобластические опухоли, рак клеток мочеточника и почечной лоханки, рак уретры, рак матки, саркому матки, рак влагалища, глиому зрительных путей и гипоталамической области, рак вульвы, макроглобулинемию Вальденстрема и опухоль Вильмса.

Согласно некоторым вариантам реализации мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) подходят для ингибирования роста опухоли. Согласно определенным вариантам реализации указанный способ ингибирования роста опухоли включает приведение клетки в контакт с MRD-содержащим антителом *in vitro*. Например, иммортализованную клеточную линию или раковую клеточную линию, которая экспрессирует мишень MRD и/или мишень антитела, культивируют в среде, к которой добавлено MRD-содержащее антитело для ингибирования роста опухоли. Согласно некоторым вариантам реализации опухолевые клетки выделяют из образца, полученного от пациента, например, биоптата ткани, плеврального экссудата или образца крови, и культивируют в среде,

к которой добавлено MRD-содержащее антитело для ингибирования роста опухоли.

Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ ингибирования роста опухоли включает приведение опухоли или опухолевых клеток в контакт с терапевтически эффективным количеством MRD-содержащего антитела *in vivo*. Согласно определенным вариантам реализации приведение опухоли или опухолевой клетки в контакт происходит в модели на животных. Например, мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) могут вводиться в ксенотрансплантаты у иммунокомпрометированных мышей (например, мышей NOD/SCID) для ингибирования роста опухоли. Согласно некоторым вариантам реализации раковые стволовые клетки выделяют из образца, полученного от пациента, например, биоптата ткани, плеврального экссудата или образца крови, и инъецируют мышам с иммунной недостаточностью, которым затем вводят MRD-содержащее антитело для ингибирования роста опухолевых клеток. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят животному в тот же момент времени, что и опухолеобразующие клетки, или вскоре после введения опухолеобразующих клеток для предотвращения роста опухоли. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело вводят в качестве терапевтического средства после того как опухолеобразующие клетки вырастают до определенного размера.

Согласно определенным вариантам реализации способ ингибирования роста опухоли включает введение пациенту (субъекту) терапевтически эффективного количества MRD-содержащего антитела. Согласно определенным вариантам реализации указанный пациент представляет собой человека. Согласно определенным вариантам реализации у указанного пациента имеется опухоль или была удалена опухоль. Согласно определенным вариантам реализации указанная опухоль экспрессирует мишень антитела. Согласно определенным вариантам реализации указанная опухоль сверхэкспрессирует мишень MRD и/или мишень антитела.

Согласно определенным вариантам реализации опухоль, рост которой ингибирован, выбрана из группы, состоящей из опухоли головного мозга, опухоли толстой и прямой кишки, опухоли поджелудочной железы, опухоли легкого, опухоли яичника, опухоли печени, опухоли молочной железы, опухоли почки, опухоли предстательной железы, опухоли ЖКТ, меланомы, опухоли шейки матки, опухоли мочевого пузыря, глиобластомы и опухоли головы и шеи. Согласно определенным вариантам реализации указанная опухоль представляет собой опухоль молочной железы.

Согласно дополнительным вариантам реализации мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) подходят для снижения онкогенности. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации способ снижения онкогенности опухоли у пациента включает введение терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) пациенту. Согласно определенным вариантам реализации указанный опухоль содержит раковые стволовые клетки. Согласно определенным вариантам реализации частота встречаемости раковых стволовых клеток в опухоли снижается в результате введения указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела). Согласно другим вариантам реализации мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) подходят для диагностики, лечения или предотвращения расстройства иммунной системы. Согласно одному варианту реализации указанное расстройство иммунной системы представляет собой воспаление или воспалительное расстройство. Согласно более конкретному варианту реализации указанное воспалительное расстройство выбрано из группы, состоящей из астмы, аллергических расстройств и ревматоидного артрита. Согласно дополнительному варианту реализации указанное расстройство иммунной системы представляет собой аутоиммунное заболевание. Аутоиммунные расстройства, заболевания или состояния, диагностика, лечение или предотвращение которых может проводиться с применением мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), включают, не ограничиваясь перечисленными, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунную тромбоцитопению новорожденных, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, аутоиммунную нейтропению, аутоиммунную цитопению, гемолитическую анемию, антифосфолипидный синдром, дерматит, глютен-чувствительную энтеропатию, аллергический энцефаломиелит, миокардит, рецидивирующий полихондрит, ревматическое заболевание сердца, гломерулонефрит (например, IgA-нефропатию), рассеянный склероз, неврит, увеит, офтальмит, полиэндокринопатии, пурпуру (например, пурпуру Шенлейна-Геноха), болезнь Рейтера, синдром скованного человека, аутоиммунное воспаление легких, миокардит, IgA-гломерулонефрит, болезнь плотного осадка, ревматическое заболевание сердца, синдром Гийена-Барре, инсулинозависимый сахарный диабет, аутоиммунное воспалительное заболевание глаз, аутоиммунный тиреоидит, гипотиреозидизм (т.е. тиреоидит Хашимото, системную красную волчанку, дискоидную волчанку, синдром Гудпасчера, пузырчатку, аутоиммунитет к рецепторам, например:

- (a) болезнь Грейвса,
- (b) тяжелую миастению, и
- (c) инсулинорезистентность, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунную тромбоцитопеническую пурпуру, ревматоидный артрит, склеродермию с антителами против коллагена, смешанное

заболевание соединительной ткани, полимиозит/дерматомиозит, пернициозную анемию, идиопатическую болезнь Аддисона, бесплодие, гломерулонефрит, например, первичный гломерулонефрит и IgA-нефропатию, буллезный пемфигоид, синдром Шегрена, сахарный диабет и резистентность к адренергическим лекарственным средствам (включая резистентность к адренергическим лекарственным средствам при астме или цистозифиброзе), хронический активный гепатит, первичный билиарный цирроз, другая недостаточность эндокринных желез, витилиго, васкулит, постинфарктный синдром, посткардиотомный синдром, крапивницу, атопический дерматит, астму, воспалительные миопатии и другие воспалительные, гранулематозные, дегенеративные и атрофические расстройства.

Согласно другому варианту реализации указанное расстройство иммунной системы, диагностика, лечение или предотвращение которого проводится с применением мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), выбрано из группы, состоящей из: болезни Крона, системной красной волчанки (СКВ), воспалительного заболевания кишечника, псориаза, диабета, язвенного колита, рассеянного склероза и ревматоидного артрита. Согласно предпочтительному варианту реализации аутоиммунное заболевание представляет собой ревматоидный артрит.

Согласно другим вариантам реализации терапевтически эффективное количество мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) вводят пациенту для лечения заболевания или расстройства обмена веществ.

Согласно другим вариантам реализации терапевтически эффективное количество мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) вводят пациенту для лечения заболевания или расстройства сердечно-сосудистой системы. Согласно одному варианту реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациенту для лечения тромбоза, атеросклероза, сердечного приступа или инсульта.

Согласно другим вариантам реализации терапевтически эффективное количество мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащих антител) вводят пациенту для лечения заболевания или расстройства скелетно-мышечной системы.

Согласно дополнительным вариантам реализации терапевтически эффективное количество мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции (например, MRD-содержащего антитела) вводят пациенту для лечения заболевания или расстройства скелетной системы. Согласно одному варианту реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию (например, MRD-содержащее антитело) вводят пациенту для лечения остеопороза. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает:

(1) мишень на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке) и

(2) мишень на лейкоците, такая как молекула Т-клеточного рецептора.

В соответствии с одним вариантом связывание одной или большего количества мишеней указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композицией применяется для направления иммунного ответа на инфекционный агент, клетку, ткань или в другую представляющую интерес локализацию у пациента. Например, согласно некоторым вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает мишень на поверхности эффекторной клетки. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает мишень на поверхности Т-клетки. Согласно конкретным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD3. Согласно другим вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD2. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает Т-клеточный рецептор (TCR). В соответствии с дополнительными вариантами реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает мишень на поверхности естественной клетки киллера. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает рецептор NKG2D (белок D естественных клеток киллеров группы 2). Согласно дополнительным вариантам реализации MRD указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции связывает CD 16 (т.е. рецептор Fc-гамма-II) CD64 (т.е. рецептор Fc-гамма), или CD32 (т.е. рецептор Fc-гамма-I). Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультиспецифическая композиция содержит более одного моноспецифического сайта связывания разных мишеней.

Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает мишень на лейкоците и опухолевый антиген на опухолевой клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает NKG2D. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает NKG2D и мишень, выбранную из ErbB2, pЭФР, pИФР-1, CD19, CD20,

CD80 и EPCAM. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает CD3. Согласно конкретным вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает CD3-эпсилон. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD3 и мишень, выбранную из ErbB2, рЭФР, рИФР-1, CD19, CD20, CD80 и EPCAM. Согласно некоторым вариантам реализации указанное MRD-содержащее антитело связывает CD4. Согласно дополнительным вариантам реализации MRD-содержащее антитело связывает CD4 и мишень, выбранную из ErbB2, рЭФР, рИФР-1, CD19, CD20, CD80 и EPCAM.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. является моноспецифической). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. является моноспецифической) на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3), и связывает мишень на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолевый антиген на опухолевой клетке, такой как раскрытая в настоящем документе мишень).

Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции, которая содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. является моноспецифической). Согласно некоторым вариантам реализации указанная вводимая мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. является моноспецифической) на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3), и связывает мишень на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолеассоциированный антиген на опухолевой клетке). Согласно некоторым вариантам реализации указанная опухолевая клетка относится к раковому заболеванию, выбранному из рака молочной железы, рака толстой и прямой кишки, рака эндометрия, рака почки (почечно-клеточного рака), рака легкого, меланомы, неходжкинской лимфомы, лейкоза, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака поджелудочной железы и рака щитовидной железы. Дополнительные варианты реализации относятся к введению терапевтически эффективного количества мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции для лечения неврологического заболевания или расстройства, выбранного из рака головного мозга, нейродегенеративного заболевания, шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БАС, рассеянного склероза, оптиконейромиелита и нейро-СПИДа (например, ВИЧ-ассоциированной деменции). Согласно еще одному варианту реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения рака головного мозга, метастатического рака головного мозга или первичного рака головного мозга. Согласно дополнительному варианту реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения повреждения головного мозга, инсульта, повреждения спинного мозга или лечения болевого синдрома. Согласно дополнительным вариантам реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения повреждения головного мозга, инсульта или повреждения спинного мозга, или лечения болевого синдрома.

Согласно одному варианту реализации терапевтически эффективное количество указанной мультивалентной и моновалентной мультиспецифической композиции вводят пациенту для лечения инфекции или симптома, связанного с инфекцией, вызванной инфекционным агентом. Согласно некоторым вариантам реализации указанный инфекция вызвана инфекционным агентом, выбранным из папавируса (например, полиомавируса JC), трипаномы, вируса Западного Нила, ВИЧ, *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*, губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота, менингита, прогрессирующей многоочаговой лейкоэнцефалопатии (ПМЛ), поздней неврологической стадии трипаномоза, энцефалита и бешенства.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) способна проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и связывать мишень, расположенную за ГЭБ со стороны головного мозга. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания, который связывает мишень (например, лиганд, рецептор или вспомогательный белок), связанную с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой. Согласно некоторым вариантам реализации единственный сайт связывания в композиции представляет собой MRD. Согласно другим вариантам реализации единственный сайт связывания в композиции представляет собой антигенсвязывающий домен антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество единственных сайтов связывания (т.е. моновалентно связывает) мишени, связанные с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой, и указанная композиция способна проникать через ГЭБ на сторону спинномозговой жидкости. Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество множественных сайтов связывания.

вания (т.е. мультивалентно связывает мишень) мишени, связанной с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой, и указанная композиция способна проникать через ГЭБ на сторону спинномозговой жидкости. Согласно дополнительным вариантам реализации терапевтически эффективное количество MRD-содержащего антитела вводят пациенту для лечения неврологического заболевания или расстройства, выбранного из рака головного мозга, нейродегенеративного заболевания, шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БАС, рассеянного склероза, оптиконейромиелита и нейро-СПИДа (например, ВИЧ-ассоциированной деменции). Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция содержит единственный сайт связывания (т.е. является моновалентным в отношении связывания конкретной мишени (антиген)) или два или большее количество сайтов связывания мишени (т.е. является моновалентным в отношении связывания конкретной мишени), выбранной из альфа-синуклеина, RGM A, Nogo A, NgR, OMGr MAG, CSPG, ингибирующих рост нейритов семафоринов (например, семафорина 3A и семафорина 4), эфрина, А-бета, AGE (S100 A, амфотерин), HPF, растворимого А-В, агглека, мидкина, нейрокана, версикана, фосфакана, Te38 и PGE2. Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция дополнительно содержит единственный сайт связывания или несколько сайтов связывания мишени, выбранной из ИЛ-1, pИЛ-1, ИЛ-6, pИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-23, TNFSF12 (TWEAK), TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганда CD40), CD45RB, CD52, CD200, ФРЭС, VLA4, ФНО-альфа, интерферона гамма, ГМКСФ, ФРФ, C5, CXCL13, CCR2, CB2, MIP 1a и MCP-1.

Согласно дополнительным вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция способна проникать через ГЭБ в спинномозговую жидкость и вводится пациенту для лечения неврологического заболевания или расстройства, выбранного из: рака головного мозга, нейродегенеративного заболевания, шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БАС, рассеянного склероза, оптиконейромиелита и нейро-СПИДа (например, ВИЧ-ассоциированной деменции). Согласно дополнительным вариантам реализации настоящее изобретение относится к лечению заболевания или расстройства путем введения MRD-содержащего антитела, которое содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. является моноспецифическим) нуждающемуся в этом пациенту. Согласно некоторым вариантам реализации указанное вводимое MRD-содержащее антитело содержит единственный сайт связывания мишени (т.е. является моноспецифической) на лейкоците, таком как Т-клетка (например, CD3) и связывает мишень на представляющей интерес клетке или ткани (например, опухолеассоциированный антиген на опухолевой клетке).

Согласно некоторым вариантам реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения неврологического заболевания или расстройства, выбранного из рака головного мозга, нейродегенеративного заболевания, шизофрении, эпилепсии, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БАС, рассеянного склероза, оптиконейромиелита и нейро-СПИДа (например, ВИЧ-ассоциированной деменции). Согласно дополнительным вариантам реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения рака головного мозга, метастатического рака головного мозга или первичного рака головного мозга. Согласно дополнительным вариантам реализации указанную мультивалентную и моновалентную мультиспецифическую композицию вводят пациенту для лечения повреждения головного мозга, инсульта, повреждения спинного мозга или боли. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанное заболевание, расстройство, или повреждение, лечение или предотвращение которого проводится с применением MRD-содержащего антитела или MRD согласно настоящему изобретению, является неврологическим. Согласно одному варианту реализации указанное неврологическое заболевание, расстройство или повреждение связано с болью, такой как острая боль или хроническая боль.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, связанных с неврологическим заболеванием или расстройством. Согласно одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция (например, MRD-содержащее антитело) связывает 1, 2 или все 3 из мишеней RGM A; NgR и NogoA. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает 1, 2, 3 или все 4 мишени из RGM A, RGM B, семафорина 3A или семафорина 4. Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из агглека, мидкина, нейрокана, версикана, фосфакана, Te38, ФНО-альфа, NogoA, RGM A, MAG и OMGr. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из агглека, мидкина, нейрокана, версикана, фосфакана, Te38 и ФНО-альфа. Согласно альтернативному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из NgR-p75, NgR-Troy, NgR-Nogo66 (Nogo), NgR-Lingo, Lingo-Troy, Lingo-p75, MAG и OMGr. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая

композиция связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из НРФ, простагландин Е2 (PGE2), ФНО-альфа, ИЛ-1-бета и рИЛ-6.

Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из альфа-синуклеина, RGM A и один или большее количество провоспалительных медиаторов (например, ФНО-альфа, ИЛ-1 и MCP-1). Такие композиции находят применение, например, при лечении нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона. Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает и действует как антагонист (т. е. представляет собой антагонист, например, ингибирует активность) 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из RGM A, Nogo A, ингибирующих рост нейритов семафоринов (например, семафорина 3A и семафорина 4), эфринов и провоспалительных мишеней (например, ИЛ-12, TNFSF12 (TWEAK), ИЛ-23, CXCL13, TNFRSF5 (CD40), TNFSF5 (лиганда CD40), ИЛ-18, ФРЭС, VLA4, ФНО-альфа, CD45RB, CD200, интерферона гамма, ГМКСФ, ФРФ, C5, CD52 и CCR2). Согласно дополнительному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает и действует как антагонист 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из CD3, ИЛ-2, рИЛ-2, ИЛ-6, рИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12p40, ИЛ-23, ТФР-бета, TNFRSF21 (DR6), fn14, CD20, LINGO, CXCL13 и CCL2. Указанные композиции находят применение в лечении, например, воспаления, нейродегенерации и нейродегенеративных расстройств, таких как РС). Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые связывают по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или большее количество указанных мишеней, также охвачены настоящим изобретением. Согласно конкретным вариантам реализации антитело-компонент MRD-содержащего антитела связывает CD3, CD20, CD52, VLA4, ФИО, TNFRSF21 (DR6), LINGO, CD3, интерферон гамма или ИЛ-6.

Согласно еще одному варианту реализации указанная мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает и действует как антагонист (т.е. представляет собой антагонист) 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, выбранных из AGE (S100 A, амфотерин), провоспалительных цитокинов (например, ИЛ-1, ИЛ-6 и ФИО), хемокинов (например, MCP 1) и молекул, которые ингибируют нейронную регенерацию (например, Nogo и RGM A). Указанные композиции находят применение в лечении, например, хронических нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера. Согласно дополнительному варианту реализации композиция, предложенная в настоящем изобретении, связывает по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, которые оказывают воздействие на нейронную генерацию и выживаемость, включая, например, агонисты НРФ, антагонисты ИЛ-1 или рИЛ-1, и А-бета. Указанные композиции находят применение в лечении, например, хронических нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера.

Согласно дополнительному варианту реализации композиция, предложенная в настоящем изобретении, связывает и действует как антагонист на 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, влияющих на нейронную регенерацию или восстановление, включая NogoA, OMGr MAG, RGM A, CSPG, один или большее количество ингибирующих астроциты семафоринов (например, семафорин 3A и семафорин 4), эфрины и провоспалительные цитокины (например, ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО). Указанные композиции находят применение в лечении нейродегенеративных заболеваний и неврологических повреждений или травм.

Согласно дополнительному варианту реализации мультивалентная и моновалентная мультиспецифическая композиция связывает и антагонизирует (т.е. представляет собой антагонист) 1, 2, 3, 4 или 5 мишеней, связанных с болью, включая, но не ограничиваясь перечисленными, НРФ и SCN9A/NAV1.7. Такие композиции находят применение, например, для лечения или облегчения боли и связанных с болью состояний.

Согласно дополнительным вариантам реализации мишени, связываемые композициями, предложенными в настоящем изобретении, связывает и действует как антагонист 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества медиаторов и/или растворимых мишеней или мишеней клеточной поверхности, вовлеченных в ингибирование роста или восстановление нейрита. Согласно конкретным вариантам реализации композиции, предложенные в настоящем изобретении, связывают и действуют как антагонисты 1, 2, 3, 4, 5 или большего количества мишеней, выбранных из Nogo, Ompg, MAG, RGM A, семафоринов, эфринов, растворимого А-б, провоспалительных цитокинов (например, ИЛ-1 и ФНО-альфа), хемокинов (например, МРР 1a). Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения боли путем введения терапевтически эффективного количества связывающего ассоциированную с болью мишень MRD-антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения боли путем введения терапевтически эффективного количества связывающего НРФ MRD-антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения боли путем введения терапевтически эффективного количества танезумаба (например, Pfizer), содержащего MRD, нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения болезни Альцгеймера путем введения терапевтически эффективного количества связывающего ассоциированную с болезнью Альцгеймера мишень MRD-антитела нуждающемуся в этом

пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения болезни Альцгеймера путем введения терапевтически эффективного количества связывающего бета-амилоид MRD-антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения болезни Альцгеймера путем введения терапевтически эффективного количества RN1219 (PF-4360365; Pfizer), содержащего MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества связывающего ассоциированную с рассеянным склерозом мишень MRD-антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества связывающего LINGO MRD-антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества MRD-антитела, которое связывает LINGO и TNFRSF21 (DR6), нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества антитела Biogen к LINGO, содержащего MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительным вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества натализумаба (например, TYSABRI®; Biogen), содержащего MRD, нуждающемуся в этом пациенту. Согласно дополнительному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества антитела Biogen к LINGO, содержащего MRD, нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно дополнительному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества связывающего CD20 MRD-антитела нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения или облегчения рассеянного склероза путем введения терапевтически эффективного количества окрелизумаба (Biogen Idec), содержащего MRD, нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно другим вариантам реализации указанные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) подходят для лечения или предотвращения инфекционного заболевания. Инфекционные заболевания, лечение которых может проводиться или которые могут быть предотвращены с применением мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител), включают, не ограничиваясь перечисленными, заболевания, связанные с дрожжевыми, микотическими, вирусными и бактериальными инфекциями. Вирусы, вызывающие вирусные инфекции, лечение которых может проводиться или которые могут быть предотвращены с применением мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) включают, не ограничиваясь перечисленными, ретровирусы (например, Т-клеточный лимфотропный вирус человека (ТЛВЧ) I и II типов и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ)), герпесвирусы (например, вирус простого герпеса (ВПГ) I и II типов, вирус Эпштейна-Барр, ВГЧ6-ВГЧ8 и цитомегаловирус), аренавирусы (например, вирус лихорадки Ласса), парамиксовирусы (например, морбилливирус, респираторно-синцитиальный вирус человека, вирус эпидемического паротита и пневмовирус), аденовирусы, буньявирусы (например, хантавирус), коронавирусы, филовирусы (например, вирус Эбола), флавивирусы (например, вирус гепатита С (HCV), вирус желтой лихорадки и вирус японского энцефалита), гепаднавирусы (например, вирусы гепатита В (HBV)), ортомиовирусы (например, вирусы гриппа А, В и С (включая птичий грипп, например, подтип H5N1)), паповавирусы (например, папилломавирусы), пикомавирусы (например, риновирусы, энтеровирусы и вирусы гепатита А), поксвирусы, реовирусы (например, ротавирусы), тогавирусы (например, вирус краснухи), рабдовирусы (например, вирус бешенства). Микроорганизмы-патогены, вызывающие бактериальные инфекции, включают, не ограничиваясь перечисленными,

Streptococcus pyogenes, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoea*, *Neisseria meningitidis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter (Vibrio) fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Edwardsiella tarda*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium*, *Treponema pallidum*, *Treponema pertenue*, *Treponema caratenum*, *Borrelia vincentii*, *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira icterohemorrhagiae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Toxoplasma gondii*, *Pneumocystis carinii*, *Francisella tularensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella melitensis*, *Mycoplasma* spp., *Rickettsia prowazeki*, *Rickettsia tsutsugumushi*, *Chlamydia* spp. и *Helicobacter pylori*.

Согласно предпочтительному варианту реализации мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) вводят пациенту для лечения или предотвращения инфекции вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) или СПИДа, ботулизма, сибирской язвы или *Clostridium difficile*.

VIII. Связанные с MRD соединения, не являющиеся антителами.

Согласно относящимся к отдельной группе вариантам реализации один или большее количество доменов MRD согласно настоящему изобретению функционально связаны с аминоконцом и/или карбоксильным концом фрагмента иммуноглобулина, таким как Fab, Fab', F(ab')₂, pFc' или Fc. Согласно некоторым вариантам реализации указанные домены MRD функционально связаны с полипептидом Fab или Fc, содержащим дополнительный домен Ig. Согласно некоторым вариантам реализации указанные домены MRD функционально связаны с аминоконцом и/или карбоксильным концом фрагмента иммуноглобулина, который также функционально связан с scFv. Согласно другим вариантам реализации MRD, предложенные в настоящем изобретении, функционально связаны с гибридным белком Fc.

В соответствии с относящимися к указанной группе вариантами реализации, один, два, три, четыре, пять, шесть, от семи до десяти или более десяти доменов MRD функционально связаны с аминоконцом и/или карбоксильным концом фрагмента иммуноглобулина. Указанные домены MRD, необязательно, связаны между собой или с фрагментом иммуноглобулина посредством линкера. Согласно одному варианту реализации один, два, три, четыре, пять, шесть, от семи до десяти или более десяти доменов MRD, функционально связанные с аминоконцом и/или карбоксильным концом фрагмента иммуноглобулина, являются одинаковыми. Согласно еще одному варианту реализации один, два, три, четыре, пять, шесть, от семи до десяти или более десяти доменов MRD, функционально связанные с аминоконцом и/или карбоксильным концом фрагмента иммуноглобулина, являются разными.

Домены MRD, функционально связанные с фрагментом иммуноглобулина, могут быть мономерными (т.е. содержать один MRD на конце пептидной цепи, необязательно, присоединенный посредством линкера) или мультимерными (т.е. содержать более одного MRD, при этом MRD, необязательно, последовательно присоединены посредством линкера). Домены MRD могут быть гомомультимерными (т.е. содержать более одного одинакового MRD, при этом MRD, необязательно, последовательно присоединены посредством линкера(ов) (например, гомодимеры, гомотримеры, гомотетрамеры и т.д.)) или гетеромультимерными (т.е. содержать два или большее количество доменов MRD, среди которых присутствует по меньшей мере два разных домена MRD, необязательно, соединенных посредством линкера(ов), при этом все или некоторые домены MRD, соединенные с конкретным концом, отличаются (например, в гетеродимере)). Согласно одному варианту реализации два разных мономерных домена MRD расположены на разных концах фрагмента иммуноглобулина. Согласно еще одному варианту реализации три, четыре, пять, шесть или более разных мономерных доменов MRD расположены на разных концах фрагмента иммуноглобулина.

Согласно альтернативному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один димерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один гомодимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один гетеродимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина.

Согласно альтернативному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один мультимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один гомомультимерный и один мономерный MRD,

расположенные на разных концах иммуноглобулина. Согласно еще одному альтернативному варианту реализации указанное MRD-содержащее антитело содержит по меньшей мере один гетеромультимерный и один мономерный MRD, расположенные на разных концах иммуноглобулина.

Несколько MRD, функционально связанных с фрагментом иммуноглобулина, могут быть нацелены на один сайт связывания мишени, или на два или большее количество разных сайтов связывания мишени. В том случае, если домены MRD связываются с разными сайтами связывания мишени, указанные сайты связывания могут располагаться на одной и той же или на разных мишенях. Аналогичным образом, один или большее количество доменов MRD могут связываться с той же мишенью, что и фрагмент иммуноглобулина.

Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере один из доменов MRD и, если это применимо, фрагмент иммуноглобулина (например, если фрагмент иммуноглобулина представляет собой Fab) связываются со своими мишенями одновременно. Согласно дополнительным вариантам реализации два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или более десяти доменов MRD, и, если это применимо, фрагмент иммуноглобулина, связываются со своими мишенями одновременно.

Синтез доменов MRD, функционально связанных с фрагментом иммуноглобулина, и анализ указанных MRD и фрагмента иммуноглобулина на способность связывать или конкурировать за связывание с одной или большим количеством мишеней одновременно, может быть осуществлен рутинным образом с применением способов, раскрытых в настоящем документе или известных из других источников в данной области техники.

Согласно конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD или фрагмент иммуноглобулина связывается с ФРЭС. Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD или фрагмент иммуноглобулина связывается с тем же эпитопом, что и ранибизумаб (LUCENTIS®, Genentech). Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD или фрагмент иммуноглобулина конкурентно ингибирует связывание ранибизумаба с ФРЭС. Согласно дополнительному варианту реализации указанный фрагмент иммуноглобулина представляет собой Fab. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанный фрагмент иммуноглобулина представляет собой ранибизумаб.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего ФРЭС-А или рФРЭС гибрида MRD и фрагмента иммуноглобулина нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего ФРЭС-А или рФРЭС гибрида MRD-Fab нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-ранибизумаба нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно другим вариантам реализации один или большее количество доменов MRD согласно настоящему изобретению функционально связаны с аминоконцом и/или карбоксильным концом гибридного белка Fc. Гибридный белок Fc может включать гибриды с любым белком или полипептидной последовательностью, имеющей(им) терапевтическое значение, например, с любыми мишенями или рецепторами мишеней, описанных в настоящем документе. Например, указанные гибриды могут содержать внеклеточный домен рецепторов или лигандов, который, как правило, функционирует или проявляет улучшенное связывание когнатного партнера в мультимерной форме, в том числе, например, рецепторов суперсемейства рецепторов ФНО (например, TNFR2, TACI, BCMA, HVEM и т.д.), суперсемейства рецепторов ИЛ (например, рецепторов ИЛ-1-ИЛ-6), суперсемейства рФРЭС (например, рФРЭС-1-рФРЭС-3), суперсемейства рецепторов ФРФ (например, рФРФ-1-рФРФ-4) и суперсемейства B7 (например, CTLA)).

Согласно конкретному варианту реализации один, два, три, четыре, пять, шесть или большее количество доменов MRD функционально связаны с гибридным белком рФРЭС-1/рФРЭС-2-Fc. Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD связываются с тем же эпитопом, что и афлиберцепт (Regeneron). Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD конкурентно ингибируют связывание афлиберцепта с ФРЭС-А или ПФР. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанные домены MRD функционально связаны с афлиберцептом. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-рФРЭС-1/рФРЭС-2-Fc нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рака толстой и прямой кишки, рака предстательной железы или немелкоклеточного рака легкого, включающий введение терапевтически эффективного количества связывающего ФРЭС-А или плацентарный фактор роста (ПФР) гибридного белка MRD-Fc нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффек-

тивного количества связывающего ФРЭС-А или плацентарный фактор роста (ПФР) гибридного белка MRD-Fc и иринотекана, 5FU, оксалиплатина, доцетаксела или FOLFOX6 нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ракового заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-афлиберцепта нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения рака толстой и прямой кишки, рака предстательной железы или немелкоклеточного рака легкого, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-афлиберцепта нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения макулярной дегенерации, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-афлиберцепта и иринотекана, 5FU, оксалиплатина, доцетаксела или FOLFOX6 нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно конкретному варианту реализации один, два, три, четыре, пять, шесть или большее количество доменов MRD функционально связаны с гибридным белком CTLA4-Fc. Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD связываются с тем же эпитопом, что и абатацепт (ORENCIA®). Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD конкурентно ингибируют связывание абатацепта с CD80 (B7-1) или CD86 (B7-2). Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанные домены MRD функционально связаны с абатацептом. Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD связываются с тем же эпитопом, что и белатацепт (Bristol Myers Squibb). Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD конкурентно ингибирует связывание белатацепта с CD80 (B7-1) или CD86 (B7-2). Согласно дополнительному варианту реализации указанный фрагмент иммуноглобулина представляет собой Fab. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанные домены MRD функционально связаны с белатацептом.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ подавления иммунного ответа, включающий введение терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-CTLA4-Fc нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ подавления иммунного ответа, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-абатацепта нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ревматоидного артрита, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-абатацепта нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ подавления иммунного ответа при отторжении трансплантата, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-абатацепта нуждающемуся в этом пациенту. Согласно конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ подавления иммунного ответа, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-белатацепта нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному конкретному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ подавления иммунного ответа при отторжении трансплантата, включающий введение терапевтически эффективного количества MRD-белатацепта нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно еще одному конкретному варианту реализации один, два, три, четыре, пять, шесть или большее количество доменов MRD функционально связаны с гибридным белком TNFR2-Fc. Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD связываются с тем же эпитопом, что и этанерцепт (ENBREL®). Согласно еще одному конкретному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD конкурентно ингибирует связывание этанерцепта с ФНО-альфа. Согласно еще одному варианту реализации один или большее количество функционально связанных доменов MRD связывают ANG2. Согласно дополнительному конкретному варианту реализации указанные домены MRD функционально связаны с этанерцептом.

Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ подавления иммунного ответа, включающий введение терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-рФНО-2-Fc нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения аутоиммунного заболевания путем введения терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-рФНО-2-Fc нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ревматоидного артрита путем введения терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-рФНО-2-Fc нуждающемуся в этом пациенту. Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения воспалительного расстройства путем введения терапевтически эффективного количества гибридного белка MRD-рФНО-2-Fc нуждающемуся в этом пациенту. Согласно еще одному варианту реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения болезни Крона путем введе-

эффективного количества гибридного белка MRD-рилонацепт-Fc нуждающемуся в этом пациенту.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает комплекс, содержащий антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), отличающийся тем, что указанный MRD содержит по меньшей мере два цистеина, при этом первый цистеин расположен в пределах первых десяти аминокислот указанного MRD, а второй цистеин расположен в пределах последних десяти аминокислот указанного MRD, и при этом указанный MRD содержит по меньшей мере пять аминокислот между указанным первым цистеином и указанным вторым цистеином. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный MRD содержит по меньшей мере 10, 15, 20, или 25 аминокислот между указанным первым цистеином и указанным вторым цистеином. Согласно некоторым вариантам реализации указанный MRD содержит по меньшей мере один пролин между указанным первым цистеином и указанным вторым цистеином. Согласно другим вариантам реализации указанный MRD содержит по меньшей мере два пролина между указанным первым цистеином и указанным вторым цистеином. Согласно некоторым вариантам реализации указанный первый цистеин расположен на расстоянии не более чем 5, 3, 3, 2 или 1 аминокислоты от N-конца указанного комплекса. Согласно некоторым вариантам реализации указанный второй цистеин расположен на расстоянии не более чем 5, 3, 3, 2 или 1 аминокислоты от C-конца указанного комплекса. Согласно некоторым вариантам реализации период полувыведения домена MRD *in vivo* в комплексе согласно настоящему изобретению увеличен по сравнению с периодом полувыведения домена MRD в соответствующем комплексе, где по меньшей мере один из цистеинов мутирован или удален. Согласно некоторым вариантам реализации указанный родство к связыванию указанного MRD по меньшей мере равно родству к связыванию домена MRD в соответствующем комплексе, где по меньшей мере один из цистеинов мутирован или удален.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает комплекс, содержащий антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), при этом указанные антитело и MRD связываются с разными мишенями или эпитопами на одной клетке или молекуле, причем связывание MRD действует агонистически или действует антагонистически на мишень MRD в физиологических условиях, при этом указанный MRD не связывает, не обладает агонизирующим или антагонизирующим действием на указанную мишень MRD в физиологических условиях в отсутствие указанного антитела. Согласно некоторым вариантам реализации MRD в комплексе согласно настоящему изобретению связывает мишень MRD в отсутствие указанного антитела с EC_{50} , составляющей более чем 0,01 нМ, 0,1 нМ, 0,5 нМ или 0,7 нМ в физиологических условиях. Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает комплекс, содержащий антитело и по меньшей мере один MRD, при этом указанные антитело и MRD связываются с разными мишенями или эпитопами на гетеромерном или гомомерном белке, причем связывание MRD действует как агонист или действует как антагонист мишени MRD в физиологических условиях, при этом указанный MRD не связывает, не обладает агонизирующим или антагонизирующим действием на указанную мишень MRD в физиологических условиях в отсутствие указанного антитела. Согласно некоторым вариантам реализации MRD в комплексе согласно настоящему изобретению связывает мишень MRD с EC_{50} , составляющей более чем 0,01 нМ, 0,1 нМ, 0,5 нМ или 0,7 нМ в физиологических условиях.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает способ ингибирования роста клетки, включающий приведение указанной клетки в контакт с мультиспецифическим и мультивалентным комплексом, содержащим антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD) и ингибитор протеинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело связывается с мишенью, выбранной из: ФРЭС, рФРЭС-1, рЭФР, ErbB2, рецептора ИФР-1 (IGF-IR), cMET, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) и рФРФ-2. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень, отличную от мишени MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует более одной протеинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы выбран из: иматиниба, гефитиниба, вандетаниба, эрлотиниба, сунитиниба, лапатиниба и сорафениба.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает способ ингибирования ангиогенеза у пациента, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества мультиспецифического и мультивалентного комплекса, содержащего антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), и ингибитор протеинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело связывается с мишенью, выбранной из: ФРЭС, рФРЭС-1, рЭФР, ErbB2, рецептора ИФР-1 (IGF-IR), cMET, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) и рФРФ-2. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень, отличную от мишени MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует более одной протеинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы выбран из: иматиниба, гефитиниба, вандетаниба, эрлотиниба, сунитиниба, лапатиниба и сорафениба. Согласно некоторым вариантам ре-

ализации настоящее изобретение охватывает способ лечения пациента, страдающего раковым заболеванием, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества мультиспецифического и мультивалентного комплекса, содержащего антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), и ингибитор протеинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанное антитело связывается с мишенью, выбранной из: ФРЭС, рФРЭС-1, рЭФР, ErbB2, рецептора ИФР-1 (IGF-IR), cMET, рецептора ФРФ-1 (рФРФ-1) и рФРФ-2. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень, отличную от мишени MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует более одной протеинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы выбран из: иматиниба, gefитиниба, вандетаниба, эрлотиниба, сунитиниба, лапатиниба и сорафениба.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает способ лечения пациента, у которого имеется заболевание или расстройство иммунной системы, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества мультиспецифического и мультивалентного комплекса, содержащего антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), и ингибитор протеинкиназы. Согласно некоторым вариантам реализации указанное заболевание или расстройство иммунной системы представляет собой воспаление или аутоиммунное заболевание. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное аутоиммунное заболевание представляет собой ревматоидный артрит, болезнь Крона, системную красную волчанку, воспалительное заболевание кишечника, псориаз, диабет, язвенный колит или рассеянный склероз. Согласно дополнительным вариантам реализации указанное антитело связывает ФНО. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует мишень, которая не является мишенью MRD-содержащего антитела. Согласно некоторым вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы ингибирует более одной протеинкиназы. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный ингибитор протеинкиназы выбран из: лестауртиниба, тофацитиниба, руксолитиниба, SB1518, CYT387, LY3009104, TG101348, фостаматиниб, BAY 61-3606 и сунитиниба.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение охватывает мультивалентный и мультиспецифический комплекс, содержащий антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), при этом указанный комплекс содержит единственный сайт связывания мишени на клеточной поверхности. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мультивалентный и мультиспецифический комплекс содержит два единственных сайта связывания разных эпитопов на одной мишени. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мультивалентный и мультиспецифический комплекс содержит 2, 3, 4, 5 или большее количество единственных сайтов связывания разных мишеней. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мультивалентный и мультиспецифический комплекс содержит единственный сайт связывания мишени на лейкоците. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мультивалентный и мультиспецифический комплекс содержит единственный сайт связывания мишени на Т-клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанный мультивалентный и мультиспецифический комплекс содержит единственный сайт связывания CD3. Согласно дополнительным вариантам реализации комплекс содержит единственный сайт связывания CD3-эпсилон. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит единственный сайт связывания мишени на естественной клетке киллере. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания мишени на пораженной заболеванием клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания 2, 3, 4, 5 или большего количества мишеней на пораженной заболеванием клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания мишени на опухолевой клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания 2, 3, 4, 5 или большего количества мишеней на опухолевой клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания мишени на иммунной клетке. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания 2, 3, 4, 5 или большего количества мишеней на иммунной клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанный комплекс содержит единственный сайт связывания мишени на естественной клетке киллере. Согласно некоторым вариантам реализации указанный комплекс связывает мишень на лейкоците и мишень на опухолевой клетке. Согласно некоторым вариантам реализации указанный комплекс связывает CD3 и CD19. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания мишени на инфекционном агенте или клетке, инфицированной инфекционным агентом. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания 2, 3, 4, 5 или большего количества мишеней на инфекционном агенте или клетке, инфицированной инфекционным агентом. Согласно некоторым вариантам реализации указанный комплекс содержит единственный сайт связывания мишени, связанной с опосредованной эндогенным рецептором гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) транспортной системой. Согласно дополнительным вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов свя-

звания мишени, связанной с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой. Согласно некоторым вариантам реализации указанный комплекс содержит несколько сайтов связывания 2, 3, 4, 5 или большего количества мишеней связанную с опосредованной эндогенным рецептором ГЭБ транспортной системой. Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой MRD. Согласно некоторым вариантам реализации указанный единственный сайт связывания представляет собой антигенсвязывающий домен.

Согласно некоторым вариантам реализации комплексы согласно настоящему изобретению содержат цитотоксический агент.

Полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или легкую цепь MRD-содержащего антитела согласно настоящему изобретению, векторы, содержащие указанные полинуклеотиды и клетки-хозяева, содержащие указанные векторы и/или полинуклеотиды, также охвачены настоящим изобретением.

Приведенные ниже примеры предназначены для иллюстрации, но не для ограничения настоящего изобретения.

Примеры

Пример 1. Нацеленные на интегрины молекулы антитело-MRD.

Новые гибридные молекулы антитело-MRD получали путем соединения нацеленных на интегрин $\alpha v \beta 3$ пептидов с каталитическим антителом 38C2. Гибриды на N-концах и C-концах легкой цепи и C-концах тяжелой цепи были наиболее эффективными. С применением проточной цитометрии было показано, что конъюгаты антител эффективно связываются с экспрессирующими интегрин $\alpha v \beta 3$ клетками рака молочной железы человека. Конъюгаты антител также сохраняли ретроальдолевую активность исходного каталитического антитела 38C2, по оценке на основании активации пролекарств методола и доксорубина. Это показывает, что нацеливание на клетки и свойства каталитического антитела могут быть эффективно скомбинированы для селективной химиотерапии.

Пример 2. Нацеленные на ангиогенный цитокин молекулы антитело-MRD.

Конструировали нацеленную на ангиогенный цитокин гибридную молекулу антитело-MRD. Использовали антитело 38C2, которое соединяли с MRD, содержащим пептид 2×Con4

(AQQEECEWDPWTCEHMGSGSATGGSGSTA

SSGSGSATHQEECEWDPWTC EHMLE (SEQ ID NO:10)).

MRD-содержащий пептид соединяли либо с N-концом, либо с C-концом легкой цепи и C-концом тяжелой цепи. Аналогичные результаты были получены с другими нацеленными на Ang2 пептидами MRD. Дополнительные нацеленные на Ang2 пептиды MRD включают:

MGAQTNFMPMDNDELLLYEQFILQQGLEGGSGSTASSGSGSSLGAQT

NFMPMDNDELLLY (SEQ ID NO:20) (LM-2×-32); и AQQEECEWDPWTCEHMG

SGSATGGSGSTASSGSGSATHQEECEWDPWTC EHMLE (SEQ ID NO:10)

(2×Con4).

Специалисту в данной области техники, с учетом изложенные в настоящем документе принципы, будет понятно, что и другие такие комбинации образуют функциональные связывающие Ang2 домены MRD согласно описанию в настоящем документе.

Пример 3. Гибриды антитело-MRD с некаталитическими антителами.

Ранее было описано гуманизированное моноклональное антитело мыши, LM609, против интегрин $\alpha v \beta 3$ человека (Rader, C. et al., PNAS 95:8910-5 (1998)). Некаталитическое моноклональное антитело человека JC7U соединяли с MRD против Ang2, содержащим 2×Con4

(AQQEECEWDPWTCEHMGSGSATGGSGSTASSGSGSATHQEECEWDPWTC E

MLE (SEQ ID NO:10))

на N-конце либо на C-конце легкой цепи. 2×Con4

(AQQEECEWDPWTCEHMGSGSATGGSGSTASSGSGSATHQEECEWDPWT

CEHMLE (SEQ ID NO:10))

исследовали в виде N-концевого гибрида с каппа-цепью антитела (2×Con4-JC7U) и в виде C-концевого гибрида (JC7U-2×Con4). Оба гибрида сохраняли способность связывать интегрин и ANG2. На левой панели на фиг. 3 видно, что обе конструкции с антителами (2×Con4-JC7U и JC7U-2×Con4) специфически связывались с рекомбинантным Ang2, как было продемонстрировано в исследовании с применением ИФА ELISA. Связывание с Ang2, однако, значительно выше для JC7U-2×Con4, содержащего 2×Con4 (SEQ ID NO: 10), соединенный с C-концом легкой цепи антитела. На правой панели фиг. 3 показано связывание Ang2-JC7U и JC7U-Ang2 с интегрином $\alpha v \beta 3$. Результаты показывают, что соединение 2×Con4 (SEQ ID NO: 10) с N- или C-концом легкой цепи не влияло на связывание моноклонального антитела JC7U с интегрином $\alpha v \beta 3$. На фиг. 4 представлено другое исследование методом ИФА ELISA с применением тех же гибридных конструкций антитело-MRD.

Пример 4. Гибридные молекулы Герцептин®-MRD.

Другой пример гибридов MRD с некаталитическим антителом представлен гибридными конструк-

циями Герцептин®-MRD. Гибриды Герцептин®-MRD являются многофункциональными, одновременно являясь низкомолекулярными антагонистами интегрина αv и химически запрограммированными нацеленными на интегрин антителами, которые демонстрируют выраженную эффективность для предотвращения метастазирования рака молочной железы за счет влияния на опосредованную αv адгезию и пролиферацию клеток. Эффективными являются гибриды MRD, содержащие Герцептин®-2×Con4 (нацеленный на ErbB2 и Ang2), Герцептин®-V114 (нацеленный на ErbB2 и ФРЭС) и Герцептин®-RGD-4C-2×Con4 (нацеленный на ErbB2, ang2 и интегрин).

Пример 5. Нацеленные на ФРЭС молекулы антитело-MRD.

Конструировали антитело, содержащее MRD, нацеленный на ФРЭС. MRD, нацеленный на V114 (SEQ ID NO: 13), присоединяли на N-конце каппа-цепи 38C2 и Герцептина® с применением линкера. При экспрессировании и тестировании полученных гибридных конструкций антитело-MRD наблюдалось выраженное связывание ФРЭС.

Пример 6. Нацеленные на рИФР-1 молекулы антитело-MRD.

Исследовали MRD, который нацелен на рИФР-1 (SFYSCLESVLNGPAEKSRG QWDGCRKK (SEQ ID NO:14)), соединенный с N-концом каппа-цепи 38C2 и Герцептина® с длинной линкерной последовательностью в качестве соединительной части. При экспрессировании и тестировании полученных гибридных конструкций антитело-MRD наблюдалось выраженное связывание рИФР-1. Дополнительные клоны, проявляющие значительное связывание с рИФР-1, были идентифицированы за несколько циклов мутагенеза и скрининга областей, описанных в табл. 4. Предпочтительные последовательности, приведенные в табл. 5, связывают рИФР-1 и не демонстрируют значимого сродства либо демонстрируют отсутствие сродства к связыванию рецептора инсулина, таким образом предположительно обладая специфичностью в отношении рИФР-1.

Таблица 4
Матрица для последующего мутагенеза

Название	ДНК	АК
Rm2-2-218	GTGGAGTGCAGGGCGCCG (SEQ ID NO:50)	VECRAP (SEQ ID NO:51)
Rm2-2-316	GCTGAGTGCAGGGCTGGG (SEQ ID NO:52)	AECRAG (SEQ ID NO:53)
Rm2-2-319	CAGGAGTGCAGGACGGGG (SEQ ID NO:54)	QECRTG (SEQ ID NO:55)

Таблица 5

Мутант	Последовательность аминокислот	Матрица	SEQ ID NO
Rm4-31	NFYQCIEMLAHPAEKSRGQWQECRTGG	Rm2-2-319	35
Rm4-33	NFYQCIEQLALRPAEKSRGQWQECRTGG	Rm2-2-319	36
Rm4-39	NFYQCIDLLMAYPAEKSRGQWQECRTGG	Rm2-2-319	37
Rm4-310	NFYQCIERLVTGPAEKSRGQWQECRTGG	Rm2-2-319	38
Rm4-314	NFYQCIEYLAMKPAEKSRGQWQECRTGG	Rm2-2-319	39
Rm4-316	NFYQCIEALQSRPAEKSRGQWQECRTGG	Rm2-2-319	40
Rm4-319	NFYQCIEALSRPAEKSRGQWQECRTGG	Rm2-2-319	41
Rm4-44	NFYQCIEHLSGSPA EKSRGQWQECRTG	Rm2-2-319	42
Rm4-45	NFYQCIESLAGGPAEKSRGQWQECRTG	Rm2-2-319	43
Rm4-46	NFYQCIEALVGVP AEKSRGQWQECRTG	Rm2-2-319	44
Rm4-49	NFYQCIEMLSLPPAEKSRGQWQECRTG	Rm2-2-319	45
Rm4-410	NFYQCIEVFWGRPAEKSRGQWQECRTG	Rm2-2-319	46
Rm4-411	NFYQCIEQLSSGPAEKSRGQWQECRTG	Rm2-2-319	47
Rm4-415	NFYQCIELLSARPAEKSRGQ WAE CRAG	Rm2-2-316	48
Rm4-417	NFYQCIEALARTPAEKSRGQWVECRAP	Rm2-2-218	49

Пример 7. Связывающие ErbB2 нацеленные на Ang2 молекулы антитело-MRD.

Конструировали антитело, содержащее MRD, который нацелен на Ang2 (L17) (SEQ ID NO: 7), соединенный с легкой цепью антитела, которое связывается с ErbB2. В качестве линкера использовали короткую линкерную последовательность, длинную линкерную последовательность или четвертую петлю в константной области легкой цепи. На фиг. 5 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкций, содержащих N-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD с антителом ErbB2 с коротким линкерным пептидом (GGGS (SEQ ID NO:1)) (L17-sL-Her), C-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD с антителом к ErbB2 с коротким линкерным пептидом (Her-sL-L17), C-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD с антителом к ErbB2 с четвертой петлей в константной области легкой цепи (Her-lo-L17) или N-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD с антителом к ErbB2 с длинным линкерным пеп-

тидом (SSGGGSGGGGGSSRSS (SEQ ID NO:19)) (L17-1L-Her). ErbB2 в различной степени связывали все конструкции. Однако, Ang2 связывали только Her-sL-L17 и L17-1L-Her.

Пример 8. Связывающие рецептор фактора роста гепатоцитов нацеленные на Ang2 молекулы антитело-MRD.

Гибрид MRD, который нацелен на Ang2 (L17) (SEQ ID NO: 7), получали соединением с N-концом либо С-концом легкой цепи антитела к Met, которое связывается с рецептором фактора роста гепатоцитов. В качестве соединительной части использовали короткую линкерную последовательность или длинную линкерную последовательность. На фиг. 6 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкций, содержащих N-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD с антителом к Met с коротким линкерным пептидом (GGGS (SEQ ID NO:1)) (L17-sL-Met), N-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD с антителом к Met с длинным линкерным пептидом (SSGGGSGGGGGSSRSS (SEQ ID NO:19)) (L17-1L-Met) и С-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD с антителом к Met с длинным линкерным пептидом (Met-1LL17). При экспрессировании и тестировании полученных гибридных конструкций антитело-MRD наблюдалось значительное связывание ANG2 при использовании длинного линкерного пептида. Гибрид нацеленного на Ang2 MRD с С-концом легкой цепи антитела обеспечивал незначительно большее связывание с Ang2, чем гибрид нацеленного на Ang2 MRD с N-концом легкой цепи антитела.

Пример 9. Связывающие ErbB2 нацеленные на интегрин молекулы антитело-MRD.

Конструировали антитело, содержащее MRD, который нацелен на интегрин $\alpha\beta 3$, (RGD4C) с последовательностью CDCRGDCFC (SEQ ID NO:106), соединенный с легкой цепью антитела Герцептин®, которое связывается с ErbB2 (Her). В качестве линкера использовали короткую линкерную последовательность, длинную линкерную последовательность или четвертую петлю в константной области легкой цепи. На фиг. 7 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкций, содержащих N-концевой гибрид нацеленного на интегрин $\alpha\beta 3$ MRD с антителом к ErbB2 с коротким линкерным пептидом (GGGS (SEQ ID NO:1)) (RGD4C-sL-Her), С-концевой гибрид нацеленного на интегрин $\alpha\beta 3$ MRD с антителом к ErbB2 с коротким линкерным пептидом (Her-sL-RGD4C), С-концевой гибрид нацеленного на интегрин $\alpha\beta 3$ MRD с антителом к ErbB2 с четвертой петлей в константной области легкой цепи (Her-lo-RGD4C) или N-концевой гибрид нацеленного на интегрин $\alpha\beta 3$ MRD с антителом к ErbB2 с длинным линкерным пептидом (SSGGGSGGGGGSSRSS (SEQ ID NO:19)) (RGD4C-1L-Her). ErbB2 в различной степени связывали все указанные конструкции. Однако интегрин $\alpha\beta 3$ связывал только RGD4C-1L-Her.

Пример 10. Связывающие рецептор фактора роста гепатоцитов нацеленные на интегрин молекулы антитело-MRD.

Конструировали антитело, содержащее MRD, который нацелен на интегрин $\alpha\beta 3$ (RGD4C) (SEQ ID NO: 106), соединенный с легкой цепью антитела, которое связывается с рецептором фактора роста гепатоцитов (Met). Использовали конструкции антитело-MRD, содержащие длинную линкерную последовательность. На фиг. 8 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкций, содержащих N-концевой гибрид нацеленного на интегрин $\alpha\beta 3$ MRD с антителом к рецептору фактора роста гепатоцитов (RGD4C-1L-Met) или С-концевой гибрид нацеленного на интегрин $\alpha\beta 3$ MRD с антителом к рецептору фактора роста гепатоцитов (Met-1L-RGD4C). RGD4C-1L-Met продемонстрировал выраженное связывание интегрин $\alpha\beta 3$.

Пример 11. Связывающие ErbB2 нацеленные на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 молекулы антитело-MRD.

Конструировали антитела, которые содержат MRD, который нацелен на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (RP) (SEQ ID NO: 14), соединенный с легкой цепью антитела, которое связывается с ErbB2 (Her). В качестве линкера использовали короткий линкерный пептид, длинный линкерный пептид или четвертую петлю в константной области легкой цепи. (Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285-4289 (1992); патент США № 5677171; № в банке ATCC 10463, каждый из перечисленных источников включен в настоящий документ посредством ссылки). На фиг. 9 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкций, содержащих N-концевой гибрид нацеленного на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD с антителом к ErbB2 с коротким линкерным пептидом (RP-sL-Her), С-концевой гибрид нацеленного на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD с антителом к ErbB2 и короткий линкерный пептид (Her-sL-RP), С-концевой гибрид нацеленного на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD с антителом к ErbB2 с четвертой петлей в константной области легкой цепи (Her-lo-RP), N-концевой гибрид нацеленного на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD с антителом к ErbB2 с длинным линкерным пептидом (RP-1L-Her) или С-концевой гибрид нацеленного на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD с антителом к ErbB2 с длинным линкерным пептидом (Her-1L-RP). ErbB2 в различной степени связывали все указанные конструкции. Рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 связывал RP-1L-Her.

Пример 12. Связывающие ErbB2 нацеленные на ФРЭС молекулы антитело-MRD.

Гибрид MRD, который нацелен на ФРЭС (V114) (SEQ ID NO: 13) (Fairbrother W. J., et al., Biochemistry 37:177754-177764 (1998)), получали путем соединения с N-концом легкой цепи связывающего ErbB2

антитела (Her). Линкерный пептид средней длины (SSGGGGSGGGGGSS (SEQ ID NO:2)) использовали в качестве соединительной части. На фиг. 10 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкции, содержащей N-концевой гибрид нацеленного на ФРЭС MRD со связывающим ErbB2 антителом с линкерным пептидом средней длины (VI 14-mL-Her). При экспрессировании и тестировании полученной гибридной конструкции антитело-MRD наблюдалось выраженное связывание ФРЭС и ErbB2.

Пример 13. Нацеленные на интегрин молекулы антитело-MRD.

Исследовали гибрид MRD, который нацелен на интегрин $\alpha\beta 3$ (RGD) (SEQ ID NO: 106), с N-концом легкой цепи 38C2 с применением линкерного пептида средней длины в качестве соединительной части. На фиг. 11 показано, что при экспрессировании и тестировании полученной гибридной конструкции антитело-MRD наблюдалось выраженное связывание интегрин $\alpha\beta 3$.

Пример 14. Нацеленные на Ang2 молекулы антитело-MRD.

Исследовали гибрид MRD, который нацелен на Ang2 (L 17) (SEQ ID NO: 7) с C-концом легкой цепи 38C2 с короткой линкерной последовательностью в качестве соединительной части. На фиг. 12 показано, что при экспрессировании и тестировании полученной гибридной конструкции антитело-MRD наблюдалось выраженное связывание ANG2.

Пример 15. Связывающие ErbB2 нацеленные на интегрин и Ang2 молекулы антитело-MRD.

MRD, который нацелен на интегрин $\alpha\beta 3$ (RGD4C), соединяли с N-концом легкой цепи нацеленного на ErbB2 антитела (Her) линкером средней длины, а нацеленный на Ang2 (L17) MRD был соединен коротким линкером с C-концом того же нацеленного на ErbB2 антитела (RGD4C-mL-Her-sL-L17). На фиг. 13 показано, что полученная гибридная конструкция антитело-MRD связывается с интегрином, Ang2 и ErbB2.

Аналогичным образом, нацеленные на ErbB2 антитела (например, Her) с нацеленным на рИФР-1 MRD, соединенным с C-концом тяжелой цепи или N-концом легкой цепи, связывались с иммобилизованными рИФР-1 в сопоставимой степени. Кроме того, нацеленные на ErbB2 антитела содержащие нацеленный на рИФР-1 MRD, соединенный с N-концом легкой цепи, и нацеленный на Ang2 MRD, соединенный с C-концом тяжелой цепи, связывались с иммобилизованными рИФР-1 в сопоставимой степени. Каждая из указанных трех мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) также ингибировала связывание ИФР-1 с иммобилизованным рИФР-1. Триспецифическая молекула (Герцептин с нацеленными на рИФР-1 и Ang2 доменами MRD) связывалась как с ErbB2 на клеточной поверхности, так и с растворимым Ang2.

Пример 16. Связывающие ErbB2 нацеленные на интегрин молекулы антитело-MRD.

Конструировали антитело, содержащее MRD, который нацелен на интегрин $\alpha\beta 3$ (RGD4C), соединенный с N-концом тяжелой цепи антитела, которое связывается с ErbB2 (Her) с применением линкера средней длины в качестве соединительной части (RGD4C-mL-her-heavy). На фиг. 14 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением указанной конструкции. Указанная конструкция связывала как интегрин, так и ErbB2.

Пример 17. Связывающие ErbB2 или рецептор фактора роста гепатоцитов, и связывающие интегрин, Ang2 или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 молекулы антитело-MRD с коротким линкерным пептидом.

Конструировали молекулы антитела-MRD, которые содержат связывающие ErbB2 или рецептор фактора роста гепатоцитов антитела, и связывающие интегрин $\alpha\beta 3$, Ang2 или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 области MRD соединяли коротким линкерным пептидом с легкой цепью указанного антитела. На фиг. 15 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкций, содержащих N-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD, соединенного с антителом к ErbB2 (L17-sL-Her), N-концевой гибрид нацеленного на интегрин MRD с антителом к ErbB2 (RGD4C-sL-Her), N-концевой гибрид нацеленного на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD со связывающим ErbB2 антителом (RP-sL-Her), C-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD со связывающим рецептор фактора роста гепатоцитов антителом (L17-sL-Met), C-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD со связывающим ErbB2 антителом (Her-sL-L17), C-концевой гибрид нацеленного на интегрин MRD со связывающим ErbB2 антителом (Her-sL-RGD4C) или C-концевой гибрид нацеленного на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD со связывающим ErbB2 антителом (Her-sL-RP). Указанные конструкции антитело-MRD в различной степени связывали ErbB2, за исключением конструкции, содержащей связывающее рецептор фактора роста гепатоцитов антитело. Антиген связывала только конструкция Her-sL-L17.

Пример 18. Связывающие ErbB2 или рецептор фактора роста гепатоцитов, и связывающие интегрин, Ang2 или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 молекулы антитело-MRD с длинным линкерным пептидом.

Конструировали молекулы антитело-MRD, которые содержат связывающие ErbB2 или рецептор фактора роста гепатоцитов антитела, и связывающие интегрин $\alpha\beta 3$, Ang2 или рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD-области, соединенные длинным линкерным пептидом с легкой цепью ука-

занного антитела. На фиг. 16 представлены результаты анализа ИФА ELISA с применением конструкций, содержащих N-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD, соединенного с антителом к ErbB2 (L17-1L-Her), N-концевой гибрид нацеленного на интегрин MRD с антителом к ErbB2 (RGD4C-1L-Her), N-концевой гибрид связывающего рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 MRD со связывающим ErbB2 антителом (RP-1L-Her), C-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD со связывающим рецептор фактора роста гепатоцитов антителом (L17-1L-Met), C-концевой гибрид нацеленного на интегрин MRD со связывающим рецептор фактора роста гепатоцитов антителом (RGD4C-1L-Met), C-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD со связывающим рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 антителом (Her-1L-RP), C-концевой гибрид нацеленного на Ang2 MRD со связывающим рецептор фактора роста гепатоцитов антителом (Met-1L-L17) или C-концевой гибрид нацеленного на интегрин MRD со связывающим рецептор фактора роста гепатоцитов антителом (Met-1L-RGD4C). Как видно на фиг. 16, гибриды антитело-MRD эффективно связывают антиген и ErbB2. Lu et al., J. Biol. Chem. 20:280(20): 19665-19672 (2005); Lu et al., J. Biol. Chem.:279(4):2856-65 (2004).

Пример 19. Клонирование и экспрессия нацеленных на Ang2 доменов MRD, соединенных со связывающим мальтозу белком.

А. Клонирование гибридов MBP.

Мономерные и димерные пептиды экспрессировали в виде белковых гибридов со связывающим мальтозу белком (MBP) с применением модифицированной формы вектора pMAL-p2 и экспрессионной системы от New England Biolabs (NEB; Беве́рли, Массачусетс). Последовательность MRD, полученную с помощью ПЦР, встраивали в вектор pMAL в 3'-направлении от гена *malE*, кодирующего MBP. Это приводит к получению вектора, кодирующего гибридный белок MRD-MBP. Вектор pMAL содержит сильный промотор *P_{tac}*, индуцируемый ИПТГ. Серия pMAL-p2 содержит нормальную сигнальную последовательность *malE*, направляющую гибридный белок через цитоплазматическую мембрану. Гибридные белки pMAL-p2 способные экспортироваться, могут быть очищены из периплазмы с использованием осмотического шока. Может быть проведено дополнительно очищение, например, путем связывания на амилозной смоле.

В. Экспрессия гибридных белков MBP и фракционирование с использованием осмотического шока.

Для экспрессирования гибридных белков бактериальные культуры, культивированные в течение ночи, повторно разводили в свежей среде до OD A600, составляющей приблизительно 0,1. Культуры культивировали до достижения OD, составляющей приблизительно 0,8, и индуцировали ИПТГ в концентрации 0,3 мМ. Культуры инкубировали со встряхиванием в течение приблизительно 4 ч, после чего бактерии центрифугировали в течение 15 мин при 4700 g. Осажденные бактерии ресуспендировали в 30 мМ Tris-HCL, pH 7,4, 20% сахарозы, 1 мМ ЭДТК. Клетки инкубировали в течение 20 мин при комнатной температуре (КТ) перед центрифугированием в течение 15 мин при 4700 g. Осажденные бактерии затем ресуспендировали в ледяном MgSO₄ и инкубировали в течение 20 мин на льду с периодическим перемешиванием. Суспензии клеток обрабатывали ультразвуком (Misonix XL2020) в течение 90 с. Клетки центрифугировали при 4°C в течение 20 мин при 4700g. Супернатант ("выделенную под действием осмотического шока фракцию") доводили до концентрации 1×ФСБ с применением 10×ФСБ (Quality Biologics, кат. № 119-069-131) и фильтровали через фильтр с размером пор 0,2 мкм. Указанные выделенные под действием осмотического шока фракции прямо анализировали на связывание с Ang2.

С. Прямое связывание гибридных белков MBP.

Для детекции прямого связывания гибридов MRD-MBP с Ang2 проводили описанный ниже ИФА ELISA. 96-луночные планшеты покрывали в течение ночи rhAng2 (R&D, кат. №623-AN) в концентрации 320 нг/мл (100 мкл/лунку). Лунки блокировали в течение 3,25 ч 250 мкл блокирующего буфера (Thermo, кат. № N502), с последующим 4-кратным промыванием 300 мкл промывочного буфера (ФСБ, 0,1% TWEEN). Гибридные белки MBP серийно разводили в блокирующем буфере и добавляли в лунки в течение 2 ч при комнатной температуре. После промывания (×300 мкл промывочного буфера) образцы обрабатывали HRP-конъюгированным моноклональным антителом мыши против MBP (NEB, кат. № E8038S), разводили в блокирующем буфере 1:4000. После инкубирования в течение 1 ч при комнатной температуре лунки промывали (8×300 мкл промывочного буфера) перед добавлением 100 мкл субстрата TMB (KPL Laboratories). Развитие цвета останавливали 100 мкл H₂SO₄ и считывали поглощение при 450 нм.

Д. Результаты.

Гибриды MRD-MBP анализировали на прямое связывание с Ang2. Выделенные под действием осмотического шока фракции индуцированных бактериальных культур серийно разводили и добавляли в покрытые Ang2 лунки. Связанные гибридные белки детектировали моноклональным антителом против MBP. Кривые зависимости "доза-эффект" представлены на фиг. 17А. Анализируемые белки представляют мутантные варианты последовательности MGAQTNFMPMDDE LLLYEQFILQGGLE (L17D) (SEQ ID NO:107).

В этой серии мотив MDD в пределах L17D был мутирован по первому D, который заменяли на все другие возможные аминокислоты (кроме цистеина). Другие протестированные домены MRD представляли собой "Lm32 KtoS" и димер Lm32 (2×Lm32). Как показано на фиг. 17В, несколько мутантов MXD демонстрировали связывание в диапазоне от 0,1 до 100 нм. Димер Lm32 (2×Lm32) проявляет более чем

10-кратно более высокое сродство к Ang2, чем любой из L17D или "Lm32 KtoS".

Пример 21. Экспрессия и очищение антител, содержащих домены MRD.

Домены молекулярного распознавания конструировали и экспрессировали в векторе pcDNA 3.3 в виде гибридных белков с тяжелыми или легкими цепями антител. Для получения белка плазмидными ДНК, кодирующими тяжелые и легкие цепи антитела, содержащего домены MRD, сначала трансформировали химически компетентные бактерии для продуцирования больших количеств ДНК для транзientной трансфекции. Одиночные трансформанты размножали в среде LB и очищали с применением наборов для выделения плазмид без эндотоксинов от Qiagen. Вкратце, лизировали клетки ночной культуры; лизаты очищали и наносили на анионообменную колонку, затем проводили этап промывания и элюировали концентрированным солевым раствором. Плазмиды осаждали, промывали и ресуспендировали в стерильной воде.

Клетки HEK293T размножали до требуемого конечного объема партии (приблизительно 5 л) до трансфекции. Получали комплекс очищенной плазмиды (1 мг/л продукта) с реагентом для трансфекции полиэтиленимином (ПЭИ), добавляли в культуру в качалочной колбе и инкубировали при 37°C. Ежедневно проводили мониторинг культуры, отслеживая число клеток, диаметр клеток и жизнеспособность. Кондиционированную среду собирали и хранили при -80°C до очищения.

Антитела, содержащие домены MRD, очищали из кондиционированной среды с применением аффинной хроматографии. Культуральный супернатант очищали фильтрацией и наносили прямо на хроматографическую колонку, содержащую сефарозу с рекомбинантным белком А (GE Healthcare). Колонку промывали, и связанные антитела, содержащие домены MRD, элюировали понижением pH буфера. После элюции pH фракций элюата немедленно доводили до физиологических значений. После аффинного очищения с белком А при необходимости может быть проведен дополнительный необязательный этап тонкой хроматографической очистки.

Очищенные белки диализуют в ФСБ, концентрируют до ~1-4 мг/мл, стерилизуют фильтрацией, разделяют на аликвоты в асептических условиях и хранят в замороженной виде при -80°C. На всех этапах очищения проводят мониторинг с применением ДСН-ПААГ-Кумасси и принимают меры для поддержания уровней эндотоксина во время очищения на минимальном возможном уровне. Конечный продукт анализировали на уровне эндотоксина (EndoSafe), чистоту (ДСН-ПААГ-Кумасси, аналитическая эксклюзионная ВЭЖХ), идентичность белков (вестерн-блоттинг) и выход белков (анализ по Бредфорду). Дополнительный анализ с применением эксклюзионной ВЭЖХ проводили для оценки уровня агрегатов.

Данные, представленные в табл. 6, указывают на то, что антитела, содержащие домены MRD, могут быть экспрессированы и очищены с применением стандартных техник.

Таблица 6

Антитело	Выход (мг)	Чистота	Агрегаты (%)	Эндотоксин (ЕЭ/мл)
Zybody				
HER2×Con4(H)	36	>90%	4,6	<1
HER-lm32(H)	57	>90%	1	2,02
HER-lm32(L)	98	>90%	2	3,26
AVA-lm32(H)	12	>90%	0	<1

Пример 22. Одновременное связывание HER Lm32(H) и HER Lm32 (L) с Her2 и Ang2.

А. Методы.

96-луночные планшеты покрывали в течение ночи rHER2-Fc (R&D, кат. №1129-ER-050) в концентрации 20 нг/мл (100 мкл/лунку). Лунки блокировали в течение 3,25 ч 250 мкл блокирующего буфера (Thermo, кат. № N502), с последующим 4-кратным промыванием 300 мкл промывочного буфера (ФСБ, 0,1% TWEEN). Антитела, содержащие домены MRD (HER-lm32(H), HER-lm32(L) и AVA-lm32(H)), и антитела (Герцептин®), серийно разводили в блокирующем буфере, содержащем 1,94 мкг/мл биотинилированного Ang2 (R&D, кат. №BT633), и добавляли в лунки в течение 2 ч при комнатной температуре. После промывания (8×300 мкл промывочного буфера) к параллельным образцам добавляли либо конъюгированное с HRP моноклональное антитело против цепи каппа человека (Abcam, кат. № ab79115-1), разведенное 1:1000 в блокирующем буфере, или конъюгированный с HRP стрептавидин (Thermo Scientific, кат. №N100), разведенный 1:4000 в блокирующем буфере. После инкубирования в течение 1 ч при комнатной температуре лунки промывали (8×300 мкл промывочного буфера) перед добавлением 100 мкл субстрата TMB (KPL Laboratories). Развитие цвета останавливали 100 мкл H₂SO₄ и считывали поглощение при 450 нм.

В. Результаты.

Как было обнаружено на основании детекции с моноклональным антителом против цепи каппа человека, как антитело на основе Герцептина®, так и содержащие домены MRD антитела на основе Герцептина® дозозависимым образом связываются с Her2 Fc в присутствии Ang2 (фиг. 18А). Только антитела на основе Герцептина®, содержащие домены MRD (HER-lm32(H) и HER-lm32(L)), демонстрирова-

ли одновременное связывание с Her2 Fc и Ang2, как обнаружено на основании детекции с конъюгированным с HRP стрептавидином (фиг. 18B).

Пример 23. Одновременное связывание AVA-lm32(H) с ФРЭС и Ang2.

А. Методы.

96-луночные планшеты покрывали ФРЭС человека в течение ночи (PeproTech, Inc. кат. №100-20) в концентрации 30 нг/мл (100 мкл/лунку). Лунки блокировали в течение 3,25 ч 250 мкл блокирующего буфера (Thermo, кат. № N502) с последующим 4-кратным промыванием 300 мкл промывочного буфера (ФСБ, 0,1% TWEEN). Антитела, содержащие домены MRD (HER-lm32(H) и AVA-lm32(H)) и антитела (Авастин®), серийно разводили в блокирующем буфере, содержащем 3,876 мкг/мл биотинилированного Ang2 (R&D, кат. №BT633), и добавляли в лунки в течение 2 ч при комнатной температуре. После промывания (8×300 мкл промывочного буфера) к параллельным образцам добавляли либо конъюгированное с HRP моноклональное антитело против цепи каппа человека (Abcam, кат. №ab79115), разведенное 1:1000 в блокирующем буфере, либо конъюгированный с HRP стрептавидин (Thermo Scientific, кат. №N100), разведенном 1:4000 в блокирующем буфере. После инкубирования в течение 1 ч при комнатной температуре лунки промывали (8×300 мкл промывочного буфера) перед добавлением 100 мкл субстрата TMB (KPL Laboratories). Развитие цвета останавливали 100 мкл H₂SO₄ и считывали поглощение при 450 нм.

В. Результаты.

Как обнаружено на основании детекции с моноклональным антителом против цепи каппа человека, как Авастин®, так и антитела на основе Авастина®, содержащие домены MRD, дозозависимым образом связываются с ФРЭС в присутствии Ang2 (фиг. 19A). Только антитела на основе Авастина®, содержащие домены MRD (AVA-lm32(H)), демонстрировали одновременное связывание с ФРЭС и Ang2, как обнаружено на основании детекции с конъюгированным с HRP стрептавидином (фиг. 19B).

Пример 24. Одновременное связывание HER-lm32 (H) и HER-lm32 (L) с HER2 и ангиопоэтином-2

Способность HER-lm32 (H) и HER-lm32 (L) одновременно связываться с Her2, экспрессируемым на поверхности клеток карциномы молочной железы BT-474, и с Ang2 в растворе определяли с применением проточной цитометрии. ФИТЦ-конъюгированные антитела мыши против Ig человека использовали для детекции тяжелой цепи антител, содержащих домены MRD, и Ang2-биотин/стрептавидин-ФЭ использовали для детекции MRD lm32. Клетки, которые связывают Her2 и Ang2 одновременно предположительно детектируются как двойные положительные по ФИТЦ- и ФЭ-флуоресценции.

1 млн HER2-положительных клеток карциномы молочной железы BT-474 инкубировали с 1 мкг HER-lm32(H) или HER-lm32(L) в течение 25 мин при комнатной температуре. После промывания клетки инкубировали с 200 нг/мл Ang2-биотина (R&D Systems) в течение 25 мин при комнатной температуре, а затем с 20 мкл ФИТЦ-конъюгированных антител мыши против Ig человека и стрептавидаина-ФЭ в течение 15 мин. После промывания 2 мл буфера клетки анализировали путем проточной цитометрии (FACS Canto II, BD).

Для подтверждения специфичности связывания HER-lm32(H) и HER-lm32(L) с HER2 на клетках BT-474 определяли связывание в присутствии 10-кратного избытка Герцептина®. В данных экспериментах антитела, содержащие домены MRD (1 мкг), инкубировали с 1 млн клеток BT-474 в отсутствие или в присутствии 10 мкг Герцептина® в течение 25 мин при комнатной температуре. Связывание антител, содержащих домены MRD, с HER2 определяли путем инкубирования с 200 нг/мл Ang2-биотина с последующей детекцией со стрептавидином-ФЭ.

Данные, представленные на фиг. 20А демонстрируют, что и HER-lm32(H), и HER-lm32(L) связывают одновременно и HER2, и Ang2. В обоих случаях наблюдалась яркая двойная флуоресценция клеток в каналах флуоресценции ФИТЦ и ФЭ. Тот факт, что Герцептин® полностью ингибировал связывание HER-lm32(H) и HER-lm32(L) с HER2 (фиг. 20B), указывает на специфичность связывания.

Кроме того, триспецифическое связывание было продемонстрировано с применением антитела, содержащего два отдельных домена MRD. Связывающее рЭФР антитело Affibody и связывающий Ang2 пептид (LM32) соединяли с С-концом легкой и тяжелой цепей Герцептина, соответственно. Указанное MRD-содержащее антитело инкубировали с рЭФР+ клеточной линией эпителия человека Her2-A431. Связанное клетками MRD-содержащее антитело детектировали биотинилированным Ang2/стрептавидином-ФЭ, меченым Alexafluor ErbB2-Fc или комбинацией Ang2/стрептавидаина-ФЭ и меченого Alexafluor ErbB2-Fc. Результаты продемонстрировали, что указанное MRD-содержащее антитело одновременно связывало рецептор рЭФР клеточной поверхности и два растворимых лиганда (ErbB2 и Ang2).

Дополнительные эксперименты продемонстрировали, что гибрид lm32 с С-концом тяжелой цепи Герцептина сохранял специфичность связывания и функцию Fc Герцептина. Герцептин и гибрид Герцептин-lm32 связывались с FcRn с аналогичным сродством (значения EC50 для Герцептина и Герцептина-lm32 составляли 2,17 и 2,84 мкг/мл, соответственно). Герцептин и гибрид Герцептин-lm32 проявляли сопоставимую АЗКЦ-активность в отношении клеток SK-BR-3. Гибрид Герцептин-lm32 и Герцептин связывались с Fcγ-RI и Fcγ-RIII с аналогичным сродством. Гибрид Герцептин-lm32 и Герцептин связыва-

лись с рецептором комплемента C1q с аналогичным средством. Кроме того, гибрид Герцептин-Im32 связывал Ang2 с субнаномолярным средством и оказывали антагонистический эффект на связывание ANG2 с рецептором Tie-2. Гибрид Герцептин-Im32 связывал внеклеточный домен EgbB2 и также ингибировал индуцированную Ang2 пролиферацию первичных бычьих лимфоэндотелиальных клеток. Гибрид Герцептин-Im32 и Герцептин связывались с внеклеточным доменом Her2 с аналогичными кинетическими показателями. Дополнительные эксперименты продемонстрировали, что гибрид Герцептин-Im32 был настолько же эффективен, как и Герцептин для ингибирования пролиферации нескольких культивируемых клеточных линий рака молочной железы (BT-474, MDA-MB-361 и SK-BR-3). На антипролиферативный эффект гибрида Герцептин-Im32 на клетки SK-BR-3 не влияло присутствие Ang2 (2 мкг/мл) в культуре.

Одновременное связывание мишени наблюдалось и для других мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител). Например, гибрид Im32, соединенного с С-концом тяжелой цепи антитела Хумира (HUM-Im32(H)) был способен одновременно связываться с Ang2 и ФНО-альфа. Тот же гибрид был способен связывать клетки 293, транзигентно трансфицированные полноразмерным ФНО-альфа человека, со средством, аналогичным средству антитела Хумира. HUM-Im32(H) также был способен ингибировать взаимодействие ФНО с его рецепторами. HUM-Im32(H) также связывался с экспрессируемым на клеточной поверхности и связанным на планшетах FcRn, а также с Fcγ-RI и Fcγ-RIII.

Пример 25. Антитела с доменами MRD, содержащие гибриды с тяжелыми цепями, связываются с мишенями.

Для оценки способности Im32-содержащих антител блокировать взаимодействие Ang2 с его рецептором TIE2, определяли с применением ИФА ELISA их эффект на связывание растворимого TIE2 со связанным на планшетах Ang2. Покрывали 96-луночный планшет (Thermo Electron, кат. №3855) Ang2 (R&D Systems, кат. №623-AN) в концентрации 200 нг/мл в ФСБ в течение ночи при 4°C. Затем планшет инкубировали с 100 мкл блокирующего раствора (Thermo Scientific, кат. №N502) в течение 1 ч при комнатной температуре. После 4-кратного промывания планшета 0,1% TWEEN-20 в ФСБ связанный на планшете Ang2 инкубировали с 0,5 мкг/мл растворимого TIE2 (R&D Systems, кат. №313-T1,) в отсутствие или в присутствии различных концентраций серийно разведенного антитела, содержащего домены MRD, в течение 1 ч при комнатной температуре. После 4-кратного промывания добавляли 100 мкл антитела против TIE2 в концентрации 0,5 мкг/мл (кат. №BAM3313, R&D Systems) и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. Связывание TIE2 с Ang2 детектировали путем инкубирования с разведенным 1:1000 антителом козы против АТ мыши, конъюгированным с HRP (BD Pharmingen, кат. №554002) в течение 1 ч при комнатной температуре. Планшет промывали 4-кратно и инкубировали с 100 мкл реагента ТМВ на протяжении 10 мин при комнатной температуре. После прекращения реакции 100 мкл 0,36N H₂SO₄ планшет считывали при 450 нм с применением спектрофотометра.

Как видно на фиг. 21А, HER-Im32(H), HER-Im32(L), и AVA-Im32(H) ингибировал связывание TIE2 со связанным на планшете Ang2 дозозависимым образом. Все протестированные Im32-содержащие антитела продемонстрировали сопоставимые ингибирующие эффекты со значениями IC₅₀, составляющими 4 нМ для HER-Im32 (H), 8 нМ для HER-Im32(L) и 3,3 нМ для AVA-Im32(H).

Пример 26. Антитела с доменами MRD, содержащие гибриды с тяжелыми цепями, связываются с мишенями.

Для определения специфичности и относительного сродства к связыванию AVA-Im32 (H) с ФРЭС проводили конкурентный анализ связывания с применением меченого биотином Авастина®.

Авастином®, меченым биотином с применением EZ-Link NHS-LC-Биотин (Pierce, кат. №21336). ФРЭС (Peprotech, кат. №100-20), покрывали 96-луночный планшет (Thermo Electron, кат. №3855) в концентрации 100 нг/мл в ФСБ в течение ночи при 4°C. Затем планшет инкубировали с 100 мкл блокирующего раствора (Thermo Scientific, кат. №N502) в течение 1 ч при комнатной температуре. После 4-кратного промывания планшета 0,1% TWEEN 20 в ФСБ, добавляли 50 мкл а®-биотина в концентрации 150 нг/мл и по 50 мкл AVA-Im32(H) или немеченого Авастина® в различных концентрациях и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. Планшет промывали 4-кратно и инкубировали со стрептавидином-HRP (Thermo, кат. №N100) в разведении 1: 1000 в течение 1 ч при комнатной температуре. Планшет промывали 4-кратно и добавляли 100 мкл реагента ТМВ. После 10 мин инкубирования при комнатной температуре добавляли 100 мкл 0,36N H₂SO₄ для остановки реакции, и считывали планшет при 450 нм.

Данные, представленные на фиг. 22 демонстрируют, что AVA-Im32(H) специфически связывается с ФРЭС-2. Он ингибирует связывание биотинилированного Авастина® с ФРЭС дозозависимым образом. Кривые зависимости "доза-эффект", полученные для AVA-Im32(H) и немеченого Авастина®, совпадают при наложении и указывают на аналогичные показатели сродства к связыванию.

Пример 27. Связывание HER-Im32(H) и HER-Im32(L) с HER2, экспрессируемым на клетках рака молочной железы.

Для определения относительного сродства антител на основе Герцептина®, содержащих домены

MRD, к связыванию HER2 на клеточной поверхности по сравнению с Герцептином® проводили конкурентный анализ связывания с Eu-меченым Герцептином®.

Герцептин® метили Eu^{3+} с применением набора для мечения европием (Perkin Elmer Life Sciences, кат. №1244-302) в системе диссоциативно-усиленного лантанидного флуоресцентного иммуноанализа (DELFA), следуя инструкциям производителя. Агент для мечения представляет собой хелат Eu и N1-(п-изотиоцианатбензил)диэтилентриамин-N1,N2,N3,N3'-тетрауксусной кислоты (DTTA). Группа DTTA образует стабильный комплекс с Eu^{3+} , и изотиоцианатная группа вступает в реакцию с аминок группами белка при щелочных показателях pH с образованием стабильной ковалентной тиомочевинной связи. Герцептин® (0,2 мг в 200 мкл натрий-бикарбонатного буфера, pH 9,3) метили 0,2 мг агента для мечения при 4°C в течение ночи. Меченый Eu Герцептин® очищали на спин-колонке с применением 50 ммоль/л трис-HCl, pH 7,5 и 0,9% NaCl в качестве элюирующего буфера.

Анализ связывания Eu-Герцептина® проводили путем инкубирования 0,5-1 млн клеток BT-474 или SK-BR3 рака молочной железы на лунку в 96-луночном планшете с 2-5 нМ Eu-Герцептина® в присутствии различных концентраций немеченых антител на основе Герцептина®, содержащих домены MRD, или Герцептина®, в течение 1 ч при комнатной температуре. Несвязанный Eu-Герцептин® удаляли, промывая 200 мкл полной среды. Затем клетки ресуспендировали в 100 мкл полной среды, и 80 мкл суспензии клеток переносили в 96-луночный планшет IsoPlate. Клетки инкубировали с 100 мкл раствора DELFIA Enhancer при комнатной температуре на протяжении 10 мин и связанный клетками Eu-Герцептин® детектировали с помощью Envison (Perkin Elmer).

Ингибирование кривых связывания, полученных с применением клеток BT-474, показано на фиг. 23. Герцептин® и антитела на основе Герцептина®, содержащие домены MRD, дозозависимым образом ингибировали связывание Eu-Герцептина® с BT-474. Наблюдались сопоставимые значения IC_{50} : 4,7 нМ для HER-Im32(H), 5,7 нМ для HER-Im32(L) и 3,7 нМ для немеченого Герцептина®.

Пример 28. Ингибирование пролиферации клеток рака молочной железы содержащими домены MRD антителами на основе Герцептина®.

Чувствительные к Герцептину клетки рака молочной железы SK-BR-3, экспрессирующие рецептор HER2neo, также тестировали в биологическом анализе. Клетки SK-BR-3 (2000 клеток/лунку) высевали в 96-луночные планшеты (Costar) с полной ростовой средой Маккоя, содержащей 2 mM глутамин, пенициллин/стрептомицин (Invitrogen) и 10% ФБС (HyClone). Клетки культивировали в течение 24 ч при 37°C, 5% CO_2 , 85% влажности. На следующий день ростовую среду заменяли на голодную среду (среда Маккоя с 2 mM глутамином, пенициллином/стрептомицином, 0,5% ФБС). Получали девять серийных разведений (диапазон концентраций: 5000-7,8 нг/мл) Герцептина® и антител на основе Герцептина®, содержащих домены MRD, в полной ростовой среде. Через 24 ч инкубирования голодную среду удаляли и серийные разведения Герцептина® и антитела на основе Герцептина®, содержащего домены MRD, переносили в планшеты в трех повторностях. Клетки культивировали в течение 6 дней. Пролиферацию количественно определяли с применением люминесцентного анализа CellTiter Glo.

С применением четырехпараметрической логистической модели были определены следующие значения IC_{50} : $0,49 \pm 0,17$ нМ для HER-Im32(H), $0,81 \pm 0,19$ нМ для HER-Im32(L) и $0,67 \pm 0,15$ нМ для HER-con4(H). Все протестированные антитела на основе Герцептина®, содержащие домены MRD, были способны ингибировать пролиферацию клеток карциномы молочной железы SK-BR-3 с субнаномолярными значениями IC_{50} . Репрезентативные аппроксимированные кривые зависимости "доза-эффект", приведенные на фиг. 24А-С, демонстрируют, что антитела на основе Герцептина®, содержащие домены MRD, ингибируют пролиферацию клеток с активностью, аналогичной активности Герцептина®.

Пример 29. Антителозависимая цитотоксичность содержащих домены MRD антител на основе Герцептина®.

Для оценки способности антител, содержащих домены MRD, опосредовать АЗКЦ in vitro использовали анализ цитотоксичности на основе набора реагентов "DELFA EUTDA Cytotoxicity reagents AD0116" (PerkinElmer). В указанном анализе целевые клетки метили гидрофобным усиливающим флуоресценцию лигандом (BADTA, бис(ацетоксиметил)-2,2':6,2"-терпиридин-6,6"-дикарбоксилатом). После проникновения в клетки BADTA превращается в гидрофильное соединение (TDA, 2,2':6,2"-терпиридин-6,6"-дикарбоновую кислоту) за счет опосредованного цитоплазматическими эстеразами расщепления, и уже не способен пересекать мембрану. После лизиса клеток TDA высвобождается в среду, содержащую раствор Eu^{3+} , с образованием флуоресцентного хелата (EuTDA). Интенсивность флуоресценции прямо пропорциональна числу лизированных клеток.

Герцептин® и антитела на основе Герцептина®, содержащие домены MRD, могут опосредовать АЗКЦ на НЕК2-положительных клетках рака молочной железы посредством связывания с рецептором HER2 на поверхности целевых клеток и активации эффекторных клеток, присутствующих в ПМКК человека, за счет взаимодействия с их рецепторами FcγRIII. Для демонстрации этого в анализе АЗКЦ использовали HER2-положительную клеточную линию SK-BR-3 рака молочной железы человека в качестве целевой клеточной линии.

Клетки SK-BR-3 развешивали 0,05% трипсин-версеном и ресуспендировали с плотностью 1×10^6 клеток/мл в среде RPMI1640, содержащей 2 мМ глутамин, пенициллин/стрептомицин и 10% ФБС (полная ростовая среда). 2×10^6 клеток в 2 мл среды переносили в 15 мл пробирку и добавляли 10 мкл реагента BADTA. Суспензию клеток аккуратно перемешивали и помещали в термостат с температурой 37°C, 5% CO₂ и 85% влажностью на 15 мин. При мечении клеток получали 7×10 серийных разведений, начиная в концентрации 5 мкг/мл Герцептина® или антител на основе Герцептина®, содержащих домены MRD.

После инкубирования с BADTA клетки 4-кратно промывали в полной ростовой среде, содержащей 2,5 мМ пробенацид. Между промывками клетки осаждали центрифугированием при 1000 об/мин в течение 3 мин. После последней промывки меченые клетки SK-BR-3 ресуспендировали в 10 мл полной ростовой среды и добавляли по 50 мкл клеток в каждую лунку 96-луночного планшета, кроме фоновых лунок. В заданные лунки добавляли по 50 мкл серийных разведений Герцептина® или антител на основе Герцептина®, содержащих домены MRD. Планшеты перемещали в термостат при 37°C, 5% CO₂ и 85% влажности на 30 мин.

МКПК, выделенные из периферической крови человека за сутки до анализа АЗКЦ, промывали однократно в RPMI1640 с 2 мМ глутамином, пенициллином/стрептомицином, 10% ФБС. Получали 10 мл суспензии МКПК с плотностью клеток $2,5 \times 10^6$ клеток/мл. 100 мкл суспензии МКПК переносили в лунки, содержащие целевые клетки и Герцептин® или антитела на основе Герцептина®, содержащих домены MRD, в трех повторностях. В заданные лунки помещали следующие контрольные составы: спонтанное высвобождение (целевые клетки без эффекторных клеток), максимальное высвобождение (лизированные целевые клетки) и фон (среда без клеток). Планшеты инкубировали в течение 2,5 ч в термостате при 37°C, 5% CO₂ и 85% влажности.

После инкубирования 20 мкл супернатанта переносили в другой планшет и добавляли 200 мкл раствора европия. Планшеты инкубировали на планшетном шейкере при комнатной температуре в течение 15 мин. Разрешенную во времени флуоресценцию измеряли с применением ридера PerkinElmer EnVision 2104 Multilabel Reader.

Для расчета процента специфического высвобождения использовали следующую формулу:

$$\text{Экспериментальное высвобождение (число импульсов)} - \text{Спонтанное высвобождение (число импульсов)} \times 100$$

Максимальное высвобождение (число импульсов) - Спонтанное высвобождение (число импульсов)

С применением четырехпараметрической логистической модели были определены следующие значения IC₅₀: $0,213 \pm 0,077$ нМ для HER-lm32(H), $0,7204 \pm 0,036$ нМ для HER-lm32(L) и $0,067 \pm 0,015$ нМ для HER-con4(H). Все протестированные антитела, содержащих домены MRD, продемонстрировали выраженную АЗКЦ-активность при субнаномолярных значениях IC₅₀. Репрезентативные аппроксимированные кривые зависимости "доза-эффект", приведенные на фиг. 25А и 25В демонстрируют, что антитела, содержащих домены MRD, способны опосредовать клеточно-зависимую цитотоксичность с активностью, сопоставимой с активностью Герцептина®.

Аналогичный эксперимент проводили в присутствии Ang2. МКПК человека активировали 20 нг/мл ИЛ-2 в течение ночи и добавляли к свежесевым (10000 клеток/лунку) меченым BADTA клеткам SK-BR-3. Соотношение эффекторы/мишень составляло 25/1. Через 4 ч инкубирования с серийными разведениями HER-lm32(H) или Хумира в присутствии 2 мкг/мл Ang2 в среду добавляли Eu и измеряли флуоресценцию с разрешением по времени (TRFI) на ридере Envision (Perkin-Elmer). HER-lm32 более активно опосредовал АЗКЦ в присутствии Ang2.

Пример 30. Ингибирование пролиферации эндотелиальных клеток AVA-lm32(H).

Тестировали биологическую активность антител на основе Авастина®, содержащих домены MRD AVA-lm32(H), для определения их способности ингибировать индуцируемую ФРЭС пролиферацию эндотелиальных клеток пупочной вены человека (ЭКПВЧ).

Клетки ЭКПВЧ 1 и 3 пассажа, соответственно, получали от GlycoTech (Гейтерсберг, Мэриленд) и Lonza. Клетки культивировали на базовой среде для эндотелиальных клеток (EBM-2) с добавлением 2% фетальной бычьей сыворотки (ФБС) и Single Quotes (Lonza) при 37°C, 5% CO₂, 85% влажности. Для экспериментов с ингибированием пролиферации клетки высевали в 96-луночные планшеты (Costar) с плотностью 2000 клеток на лунку в среду EBM-2 с 2% ФБС и культивировали в течение 24 ч. Получали девять серийных разведений Авастина® или AVA-lm32(H), начиная с 5 мкг/мл, на среде EBM-2 с 2% ФБС. Во все серийные разведения добавляли ФРЭС (R&D Systems) в конечной концентрации 10 нг/мл. После инкубирования в течение 15 мин при 37°C, 5% CO₂, 85% влажности, серийные разведения добавляли к клеткам. Через 96 часов к клеткам добавляли CellTiter Glo. После инкубирования при комнатной температуре в течение 15 мин суспензию клеток переносили в 96-луночные белые непрозрачные планшеты и измеряли люминесценцию с применением ридера PerkinElmer EnVision 2104 Multilabel Reader.

Как видно на фиг. 26А и 26В, AVA-lm32(H) демонстрировал дозозависимую антипролиферативную активность в отношении клеток ЭКПВЧ из обоих источников. Значения IC₅₀, рассчитанные на основе аппроксимированных 4-параметрической логистической моделью кривых, указывают на аналогичную активность AVA-lm32(H) и Авастина® (значения IC₅₀ составляли $0,36 \pm 0,42$ нМ и $0,33 \pm 0,38$ нМ, соответ-

ственно).

Пример 31. MRD-содержащие антитела ингибируют пролиферацию опухоли *in vivo*.

Для определения эффективности мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) *in vivo*, оценивали их эффективность в модели опухоли Colo5 на мышах. В данных экспериментах опухоли имплантировали на правый бок шестинедельных самок бестимусных мышей nude путем инъекции 5×10^6 клеток Colo205, суспендированных в 100 мкл ФСБ. Животным в трех группах, по восемь животных каждая, внутрибрюшинно инъецировали по 5 мг/кг антитела (Герцептин, Rituxan) или MRD-содержащее антитело (HER-2 $\times$ Con4; "H2 $\times$ Con4") в 100 мкл ФСБ раз в три дня, начиная на 6 день после имплантации опухоли. Результаты, представленные на фиг. 27, демонстрируют, что MRD-содержащее антитело более эффективно ингибировало рост опухоли, чем Ритуксимаб® или Герцептин®.

Герцептин с Im32, присоединенным к С-концу тяжелой цепи, также ингибировал рост опухоли в моделях как Her2-зависимых, так и зависимых от ангиогенеза ксенотрансплантированных опухолей. Фармакокинетика гибрида Герцептин-Im32 была аналогичная ФК Герцептина у мышей и у обезьян после однократных инъекций. Кроме того, гибрид Герцептин-Im32 сохранял стабильность в цельной крови до 72 ч при 37°C.

Пример 32. Молекулярные анализы для оценки MRD-содержащих антител.

Новые мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) получают путем изменения последовательности MRD и/или антитела, путем изменения локализации, в которой антитело соединено с MRD, и/или путем изменения линкера, посредством которого MRD соединен с антителом. Связывающий потенциал, структуру и функциональные характеристики указанных мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) оценивают с применением известных техник измерения связывания и функции белков. Мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) сравнивают с MRD по отдельности, антителом по отдельности и с другими мультивалентными и мультиспецифическими композициями (например, MRD-содержащими антителами).

MRD-содержащее антитело тестируют с применением твердофазного анализа, в котором мишень MRD и/или антитело иммобилизуют на твердой поверхности и затем подвергают воздействию возрастающих концентраций флуоресцентно меченого MRD-содержащего антитела. Твердую поверхность промывают для удаления несвязанного MRD-содержащего антитела и прямо определяют количество связанного с мишенью MRD-содержащего антитела путем количественного определения флуоресценции. В другом эксперименте иммобилизованную мишень подвергают воздействию возрастающих концентраций немеченого MRD-содержащего антитела и количество связанного с мишенью MRD-содержащего антитела определяют непрямо с применением меченого реагента, который связывается с MRD-содержащим антителом.

MRD-содержащее антитело тестируют с применением жидкофазного анализа, в котором мишень MRD и/или антитела добавляют в раствор с различными концентрациями MRD-содержащего антитела. Взаимодействие мишени с MRD-содержащим антителом детектируют по появлению молекулярного комплекса, состоящего из мишени и MRD-содержащего антитела, отличающегося молекулярной массой (и подвижностью) от несвязанной мишени и несвязанного MRD-содержащего антитела.

MRD-содержащее антитело также анализируют с применением клеточного анализа, в котором экспрессирующие мишень клетки инкубируют в присутствии возрастающих концентраций MRD-содержащего антитела. Связывание MRD-содержащего антитела детектируют путем сортировки клеток с активированной флуоресценцией. Кроме того, оценивают клеточную пролиферацию, клеточную дифференцировку, фосфорилирование белков, экспрессию белков, экспрессию мРНК, состав мембран, активность сигнальных путей и жизнеспособность клеток. Подходящие мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связываются с мишенью MRD, и с мишенью антитела.

Кроме того, подходящие мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) влияют по меньшей мере на один клеточный процесс.

Пример 33. Идентификация доменов MRD с улучшенными характеристиками.

В LM32 были идентифицированы два потенциальных Т-клеточных эпитопа. Для идентификации вариантов LM32, которые не содержат Т-клеточных эпитопов, и, соответственно, с меньшей вероятностью вызывают иммуногенный ответ, получали варианты пептида LM32 с мутациями и удалениями. Варианты LM32 перечислены в табл. 7. Домены MRD экспрессировали в виде гибридов с белком MBP и тестировали на способность связывать Ang2.

Таблица 7

MRD, экспрессируемые в виде гибрида с белком MBP	EC50 (нМ)	SEQ ID NO
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDELLLYEQFI	1,080	32
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNEELLYEQFI	20,700	33
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDEGLLYEQFILQQGLE	1,040	88
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDELGLLYEQFILQQGLE	н/о	89
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDEALLYEQFILQQGLE	0,182	90
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDELTLYEQFILQQGLE	1,420	91
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDELLLYEQFIYQQGLE	н/о	92
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDEGLLYEQFIYQQGLE	0,902	93
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDEALLYEQFIYQQGLE	0,392	94
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNEELTLYEQFIFQQG	н/о	95
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDEGLLYEEFILQQGLE	0,922	96
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNDEALLYEEFILQQGLE	0,426	97
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDNEELTLYEELFILQQGLE	н/о	98
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDQDELLLYEQFILQQGLE	0,383	99
KSLSLSPGSGGGSMGAQTNFMPMDDELLLYEQFILQQGLE	0,240	100

Затем варианты LM32 тестируют на способность индуцировать пролиферацию и/или высвобождение цитокинов. Идентифицируют варианты LM32, функционально активные и обладающие пониженным иммуногенным потенциалом. Получают MRD-содержащее антитело, содержащее вариант LM32, соединенный с легкой цепью Герцептина®, MRD-содержащее антитело, содержащее вариант LM32, соединенный с тяжелой цепью Герцептина®, MRD-содержащее антитело, содержащее вариант LM32, соединенный с легкой цепью Хумира®, MRD-содержащее антитело, содержащее вариант LM32, соединенный с тяжелой цепью Хумира®, MRD-содержащее антитело, содержащее вариант LM32, соединенный с легкой цепью Авастина®, и MRD-содержащее антитело, содержащее вариант LM32, соединенный с тяжелой цепью Авастина®. Содержащие варианты LM32 антитела вводят в моделях на животных, измеряют представленность в форме белка плазмы, время удержания в плазме и в ткани, и сравнивают с указанными показателями антител Герцептин®, Хумира® и Авастин®. Кроме того, эффекты содержащих варианты LM32 антител на клеточную пролиферацию, ангиогенез, онкогенность, артритные показатели сравнивают с эффектами антител Герцептин®, Хумира® и Авастин®.

Пример 34. Анализы *in vivo* для оценки MRD-содержащих антител.

Для определения эффективности мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) *in vivo* в моделях на животных проводят лечение антителом и MRD-содержащим антителом и сравнивают результаты.

MRD-содержащие антитела против HER2 тестируют в следующей модели *in vivo*. Клетки NIH 3T3, трансфицированные экспрессионной плазмидой с HER2, инъецируют бестимусным мышам *nu/nu* подкожно в дозе 10^6 клеток в 0,1 мл забуференного фосфатом солевого раствора согласно описанию в патенте США №6399063, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. На 0, 1, 5 день и затем раз в 4 дня внутривенно инъецируют 100 мкг антитела к HER2, Ang2-содержащего антитела к HER2, igf1r-содержащего антитела к HER2 и Ang2-igf1r-содержащего антитела к HER2. Возникновение и размер опухолей отслеживают в течение одного месяца. Наблюдается повышенная эффективность мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) по сравнению с антителами.

MRD-содержащие антитела против ФРЭС тестируют в следующей модели *in vivo*. Мышей RIP-ТрAg содержат на богатом сахарами корме и 5% растворе сахара в воде согласно описанию в опубликованной заявке на патент США №2008/0248033, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. В возрасте 9-9,5 или 11-12 недель мыши получают лечение два раза в неделю в виде внутривенных инъекций 5 мг/кг антитела против ФРЭС, Ang2-содержащего антитела против ФРЭС, igf1r-содержащего антитела против ФРЭС или Ang2-содержащего и igf1r-содержащего антитела. Мыши возрастом 9-9,5 недель получают лечение на протяжении 14 дней, после чего проводится исследование. Мышей возрастом 11-12 недель исследуют через 7, 14 и 21 день лечения. Поджелудочную железу и селезенку мышей извлекают и анализируют. Число опухолей определяют, препарируя каждую сферическую опухоль и производя подсчет. Опухолевую нагрузку определяют путем вычисления суммарного объема всех опухолей в пределах поджелудочной железы мыши. Эффект на ангиогенез определяют путем вы-

числения среднего количества наблюдаемых ангиогенных островков. Наблюдается повышенная эффективность мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) по сравнению с антителами.

MRD-содержащие антитела против ФНО тестируют в следующей модели *in vivo*. Трансгенные мыши (Tg197) получают лечение в виде трех внутривенных инъекций антитела против ФНО или Ang2-содержащего антитела против ФНО в дозе 1,5 мкг/г, 15 мкг/г или 30 мкг/г согласно патенту США №6258562, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Инъекции продолжают на протяжении приблизительно 10 недель; еженедельно регистрируют макроскопические изменения морфологии суставов. Через 10 недель мышей умерщвляют и проводят микроскопическое исследование тканей. Размер суставов определяют как средний измеренный размер заднего правого голеностопного сустава с применением микрометра; артритные показатели регистрируют следующим образом: 1=артрит отсутствует; ±=незначительный (видоизменение суставов); ++=умеренный артрит (опухание, деформация суставов); и +++=тяжелый артрит (детектирован анкилоз при сгибании; тяжелые двигательные нарушения).

Используют следующие патогистологические оценки на основе окрашивания срезов суставов гематоксилином-эозином; 0=детектируемое заболевание отсутствует; 1=пролиферация синовиальной мембраны; 2=сильное утолщение синовиальной оболочки 3=разрушение хряща и эрозия кости. Наблюдается повышенная эффективность мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) по сравнению с антителами.

Пример 35. MRD-содержащие антитела превосходят комбинации антител и доменов MRD.

Для сравнения эффективности мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) с комбинациями антител и доменов MRD, исследовали их эффект на клетки SK-BR-3, обработанные ЭФР.

Клетки SK-BR-3 обрабатывали Герцептином, содержащим рЭФР-MRD Герцептином, содержащим рЭФР-MRD антителом Хумира ("только MRD") или Герцептином в комбинации с антителом Хумира, содержащим рЭФР-MRD ("антитело плюс только MRD") на протяжении 10 мин или 3 ч, и стимулировали ЭФР в течение 5 мин. Собирали клеточные лизаты и использовали вестерн-блоттинг для определения уровней фосфотирозина или фосфо-Akt. Результаты представлены на фиг. 28. Герцептин, содержащий рЭФР-MRD полностью ингибировал индуцированное ЭФР фосфорилирование рецепторов и активацию Akt, тогда как Герцептин, только MRD, и антитело Герцептин плюс только MRD оказывали незначительный эффект или не оказывали эффекта.

Кроме того, эффект мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) на клеточную пролиферацию сравнивали с эффектом комбинации антител и доменов MRD. В данных экспериментах полученные из MCF-7 клетки карциномы молочной железы обрабатывали антителом Герцептин, содержащим нацеленный на *ifglr* MRD, соединенный с С-концом легкой цепи, только Герцептином или антителом Хумира, содержащим тот же нацеленный на *ifglr* MRD ("только MRD"). Как видно на фиг. 29А, MRD-содержащее антитело ингибировало пролиферацию клеток лучше, чем только Герцептин или только MRD.

Клетки MCF-7 также обрабатывали пентаспецифическим MRD-содержащим антителом. Сначала было продемонстрировано, что указанные пентаспецифические мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) связываются с пятью мишенями. Нацеленный на Ang2 MRD (*Im32*) и нацеленный на р-ЭФР MRD соединяли с N- и С-концами, соответственно, антитела Герцептин. Кроме того, нацеленный на $\alpha\upsilon\beta 3$ MRD (*eeti*) и нацеленный на *ifglr* MRD соединяли с N- и С-концами, соответственно, такого же антитела Герцептин. Отдельные лунки 96-луночного планшета покрывали Ang2, ErbB2, рЭФР, рИФР-1 и $\alpha\upsilon\beta 3$ и инкубировали с серийными разведениями MRD-содержащего антитела. Связанное MRD-содержащее антитело детектировали с применением детектирующего антитела против IgG-каппа человека. Результаты продемонстрировали, что MRD-содержащее антитело связывалось с Ang2, ErbB2, рЭФР, рИФР-1 и $\alpha\upsilon\beta 3$ с низким наномолярным или субнаномолярным сродством, сопоставимым с индивидуальными показателями сродства к связыванию доменов MRD или антител.

Затем согласно описанию выше тестировали способность указанных пентаспецифических мультивалентных и мультиспецифических композиций (например, MRD-содержащих антител) к ингибированию пролиферации клеток MCF-7. Результаты, представленные на фиг. 29В, демонстрируют, что пентаспецифические мультивалентные и мультиспецифические композиции с Герцептином (например, MRD-содержащие антитела) уменьшают пролиферацию более эффективно, чем антитело Герцептин.

Пример 36. MRD-содержащие антитела против ФНО.

MRD-содержащее антитело, которое нацелено на ФНО, получали путем соединения Ang2-связывающего MRD (*Im32*) с С-концом тяжелой цепи Хумира и экспрессировали в системах как транзиторной, так и стабильной экспрессии. Указанное MRD-содержащее антитело связывало одновременно ФНО-альфа и Ang2. Указанное MRD-содержащее антитело связывало растворимый ФНО-альфа и ФНО-альфа на клеточной поверхности, и сохраняло специфичность связывания и функции Fc антитела Хумира

(например, связывание FcRn, Fc-гамма-R1 и Fc-гамма-R3), а также ингибировало опосредованную Ang2 сигнализацию через рецептор Tie-2 дозозависимым образом с субнанолярной аффинностью.

Гибрид Хумира-Im32 также ингибировал опосредованную ФНО-альфа цитотоксичность в клетках L929. Указанные клетки культивировали в 96-луночных планшетах в течение ночи и обрабатывали 1 нг/мл ФНО с добавлением 1 мкг/мл актиномицина D в присутствии Хумира или Хумира-Im32 в течение 24 ч при 37°C. После инкубирования добавляли 100 мкл реагента CellTiter-Glo, и измеряли люминесценцию с применением InVision (Perkin-Elmer) через 15 мин при комнатной температуре. Результаты показали, что Хумира и Хумира-Im32 проявляли равную активность при ингибировании ФНО-альфа-опосредованной цитотоксичности в клетках L929 (IC_{50} антитела Хумира=19,0 нг/мл; IC_{50} Хумира-Im32=18,9 нг/мл).

Далее, гибрид Хумира-Im32 демонстрировал дозозависимую защиту трансгенных по ФНО человека мышей от клинических признаков артрита в общепринятой модели на мышах. См., например, Keffer et al., EMBO J. 10:4025-4031 (1991). Однодозовое исследование ФК на мышах показало, что гибрид Хумира-Im32 и Хумира имеют аналогичные профили ФК и иммуногенности. Однако гибрид Хумира-Im32 продемонстрировал повышенную эффективность в указанной модели по сравнению с эффективностью только Хумира, по оценке как клинических симптомов, так и гистологии. См. фиг. 30.

Пример 37. Антитела Zybody ингибируют индуцируемую ЭФР сигнализацию.

Клетки SK-BR3 высевали с плотностью $0,5 \times 10^6$ клеток/лунку в 6-луночные планшеты и инкубировали (37°C, 5% CO₂) в течение 24 ч, после чего клетки обрабатывали 10 мкг/мл биспецифических и триспецифических антител Zybody или Герцептина в 1 мл полной среды DMEM с 10% ФБС в течение 24 ч при 37°C. Затем клетки стимулировали 100 нг/мл ЭФР в течение 5 мин. После стимуляции клетки разрушали в 200 мкл лизирующего клеточного буфера (10 mM Tris-HCl (pH 7,5), 1% Triton X-100, 150 mM NaCl, 10% глицерина, 1 mM ванадат натрия, 5 mM ЭДТК и ингибиторы протеазы). Клеточные лизаты центрифугировали при 14000 об/мин на протяжении 10 мин при 4°C для удаления клеточного дебриса. Равный объем 2× буфера для образцов и клеточные лизаты смешивали и кипятили при 100°C в течение 5 мин, белки разделяли на 10% ДСН-ПААГ и переносили на ПВДФ-мембраны (кат. №LC2005, Invitrogen). Мембраны блокировали 3% БСА, 0,1% TWEEN 20 в течение ночи и инкубировали с антителами к фосфо-AKT (кат. №AF887, R&D Systems), фосфо-ERK (кат. №AF1018, R&D Systems) и тотальной ERK (MAB1576, R&D Systems). Конъюгированные с пероксидазой хрена или AP-конъюгированные вторичные антитела против АТ кролика и против АТ мыши (Invitrogen) использовали для визуализации иммунореактивных белков с использованием хемилюминесценции или реагентов для детекции ассоциированного фосфопротеина (AP), соответственно.

Одно биспецифическое антитело, использованное в указанном примере, содержало Герцептин и связывающий рЭФР MRD (Her-egfr, Her-рЭФР). Другое биспецифическое антитело содержало Герцептин с scfv пертузумаба (нацеленным на эпитоп HER2, отличный от эпитопа антитела Герцептин) на С-конце тяжелой цепи (Her-пертузумаб(H)). Одно триспецифическое антитело содержало Герцептин со связывающим рЭФР MRD на С-конце тяжелой цепи и scfv пертузумаба на С-конце легкой цепи. Другое триспецифическое антитело содержало Герцептин со связывающим рЭФР MRD на С-конце легкой цепи и scfv пертузумаба на С-конце тяжелой цепи (Her-zEGFR(L)-Pert(H)). Другое триспецифическое антитело содержало рЭФР-связывающий MRD, и scfv пертузумаба, который нацелен на эпитоп HER2, отличный от целевого эпитопа HER2 антитела Герцептин (Her-Pert(L)zEGFR(H) и Her-zEGFR(L)-Pert(H)).

Клетки SK-BR3 экспрессируют очень высокие уровни HER2 и чувствительны к антипролиферативным эффектам Герцептина. Ингибирование конститутивно активированной АКТ представляет собой один из механизмов антипролиферативных эффектов Герцептина в сверхэкспрессирующих HER2 клетках. Такое ингибирование можно предотвратить добавлением факторов роста, таких как ЭФР, ИФР-1 и херегулина (HRG) за счет индуцирования внутриклеточной промитогенной сигнализации. Как показано на фиг. 31, индуцируемая ЭФР активация путей АКТ и ERK в клетках SK-BR3 видна по повышению уровней фосфорилированной АКТ и ERK. Герцептин не оказывает эффекта на ЭФР-индуцированную активацию сигнальных путей в клетках SK-BR3, тогда как Her-egfr и два триспецифических антитела Zybody с нацеленным на рЭФР пептидом ингибировали эффекты ЭФР. В отличие от биспецифического антитела, которое ингибировало только индуцируемую ЭФР сигнализацию, триспецифические антитела также ингибировали конститутивно активные Akt и ERK в клетках SK-BR3.

Пример 38. Антитела Zybody ингибируют индуцируемую херегулином сигнализацию.

Клетки SK-BR3 высевали с плотностью $0,5 \times 10^6$ клеток/лунку в 6-луночные планшеты и культивировали в течение ночи. На следующий день клетки обрабатывали 10 мкг/мл биспецифических и триспецифических антител Zybody или Герцептина в 1 мл полной среды DMEM с 10% ФБС в течение 24 ч при 37°C. Затем клетки стимулировали 200 нг/мл херегулина на протяжении 10 мин. Проводили анализ методом вестерн-блоттинга для детекции уровней фосфорилированной и тотальной Akt и ERK согласно описанию в примере 37.

Херегулин связывается с HER3 и индуцирует активацию сигнальных путей за счет образования гетеродимера HER2-HER3. Как видно на фиг. 32, херегулин индуцировал активацию Akt и ERK в клетках

SK-BR3. Герцептин и HER-egfr не оказывали эффекта на индуцируемую херегулином активацию Akt. Пертузумаб, но не Герцептин, блокирует опосредованное херегулином образование гетеродимера HER2-HER3 и сигнализацию. На фиг. 32 показано, что биспецифические и триспецифические антитела Zybody, содержащие scfv пертузумаба, полностью ингибировали индуцированную херегулином активацию Akt в клетках SK-BR3.

Пример 39. Антитела Zybody ингибируют индуцируемую ЭФР и херегулином сигнализацию.

Клетки SK-BR3 высевали с плотностью $0,5 \times 10^6$ клеток/лунку в 6-луночные планшеты и культивировали в течение ночи. На следующий день клетки обрабатывали 10 мкг/мл биспецифических и триспецифических антител Zybody или Герцептина в 1 мл полной среды DMEM с 10% ФБС в течение 24 ч при 37°C. Затем клетки стимулировали 100 нг/мл ЭФР и 200 нг/мл херегулина на протяжении 10 мин. Проводили анализ методом вестерн-блоттинга для детекции уровней фосфорилированной и тотальной Akt и ERK согласно описанию в примере 37.

Комбинированная стимуляция клеток SK-BR3 ЭФР и херегулином приводила к активации и АКТ, и ERK (фиг. 33). Герцептин, HER-efgr и HER-pertuzuScfv были неэффективны для блокирования комбинированных эффектов ЭФР и херегулина. Триспецифические антитела Zybody, содержащие как нацеленный на рЭФР пептид, так и scfv пертузумаба, полностью ингибировали индуцируемую ЭФР и херегулином активацию Akt и ERK в клетках SK-BR3.

Пример 40. Антитела Zybody понижающе регулируют рЭФР клеточной поверхности.

Клетки SK-BR3 высевали с плотностью $0,5 \times 10^6$ клеток/лунку в 6-луночные планшеты и культивировали в течение ночи. На следующий день клетки обрабатывали 10 мкг/мл биспецифических и триспецифических антител Zybody, Герцептина, эрбитукса (Erbix), ЭФР и их комбинаций в 1 мл полной среды DMEM с 10% ФБС в течение 24 ч при 37°C, согласно описанию. Клетки разъединяли и определяли уровни рЭФР на клетках с применением проточной цитометрии с ФЭ-конъюгированным антителом против рЭФР.

В данном эксперименте использовали следующие антитела Zybody: антитело Герцептин со связывающим рЭФР MRD на С-конце тяжелой цепи (HER-egfr(H)); антитело Хумира со связывающим рЭФР MRD на С-конце тяжелой цепи (HUM-egfr(H)); Герцептин с scfv пертузумаба на С-конце тяжелой цепи (HER-perscfv(H)); Хумира с scfv пертузумаба на С-конце тяжелой цепи (HUM-perscfv(H)); Герцептин с scfv пертузумаба на С-конце легкой цепи и связывающим рЭФР MRD на С-конце тяжелой цепи (HER-perscfv(L)-egfr(H)); Герцептин с scfv пертузумаба на С-конце тяжелой цепи и связывающим рЭФР MRD на С-конце легкой цепи (HER-perscfv(H)-egfr(L)); и антитело Хумира со связывающим рЭФР MRD (HUM-egfr).

Эрбитукс (Erbix), ЭФР, а также биспецифические и триспецифические антитела Zybody, содержащие нацеленные на рЭФР пептиды, понижающе регулировали уровни рецептора рЭФР на клеточной поверхности (фиг. 34А и В). Обработка HER-egfr в течение 24 ч была более эффективна (61%), чем обработка только HUM-egfr (27%) или комбинацией HUM-egfr с Герцептином (41%), и эрбитукса (Erbix) с Герцептином (51%) (фиг. 34А и В). Это показывает, что одновременный таргетинг рЭФР и HER2 в формате антитела Zybody был более эффективен для понижающей регуляции рЭФР, чем комбинация двух индивидуальных антител. Кроме того, обработка триспецифическими антителами, нацеленными на рЭФР и два разные эпитопа HER2, полностью понижающе регулировала (понижала на 99%) уровни рЭФР на клетках SK-BR3.

Пример 41. Антитела Zybody понижающе регулируют экспрессию рЭФР.

Клетки SK-BR3 высевали с плотностью $0,5 \times 10^6$ клеток/лунку в 6-луночные планшеты и культивировали в течение ночи. На следующий день клетки обрабатывали 10 мкг/мл биспецифических и триспецифических антител Zybody или Герцептина в 1 мл полной среды DMEM с 10% ФБС в течение 24 ч при 37°C. Получали клеточные лизаты и проводили анализ методом вестерн-блоттинга для детекции рЭФР с применением антитела к рЭФР (кат.№ MAB10951, R&D Systems) и общих уровней ERK согласно описанию в примере 37.

Обработка Герцептином и scfv Her-Пертузумаба не оказывала эффекта на уровни рЭФР в клетках SK-BR3. HER-egfr частично понижающе регулировал белок рЭФР, и практически полное разрушение рЭФР наблюдалось в клетках, обработанных триспецифическими антителами Zybody.

Пример 42. Антитела Zybody повышают активность MRD.

Проводили следующие эксперименты для исследования эффекта, оказываемого гибридным антителом на активность MRD. Индивидуальные лунки 96-луночного планшета покрывали рИФР-1 и ErbB2-Fc (HER2) (1 мкг/мл) в различных соотношениях. Лунки промывали, и затем добавляли серийные разведения антител Zybody в присутствии меченого биотином ИФР-1. Использовали антитела Zybody, представляющие собой антитело Герцептин, содержащее нацеленный на рИФР MRD на С-конце тяжелой цепи (HER-igfr(H)), и антитело Хумира, содержащее нацеленный на рИФР MRD на С-конце тяжелой цепи (HUM-igfr(H)). Связанный ИФР-1 количественно определяли с добавлением стрептавидина-HRP. Результаты представлены в табл. ниже.

Таблица 8
Ингибирование связывания ИФР-1, IC₅₀ (нМ)

Антитело Zybody	Отношение рИФР-1:HER2			
	1:0	3:1	1:1	1:3
HER-igfr(H)	220	20,91	1,44	0,14
HUM-igfr(H)	240	189,9	186	111

Ингибирование связывания ИФР-1 было аналогичным для обоих антител Zybody, протестированных при отсутствии в планшетах ErbB2-Fc (HER2) (IC₅₀ HER-igfr(H)=220 нМ; IC₅₀ HUM-igfr(H)=240 нМ). В тех случаях, когда планшеты содержали и мишень антитела, и мишень MRD, связывание с мишенью MRD резко уменьшалось. Например, при применении антитела Zybody HER-igfr(H) ингибирование связывания ИФР-1 снижалось от IC₅₀=220 нМ при отсутствии мишени антитела в планшетах (отношение рИФР-1:HER2=1:0) до IC₅₀=1,44 при наличии мишени антитела и мишени MRD в планшетах в эквивалентных количествах (отношение рИФР-1:HER2=1:1). Эти данные свидетельствуют, что вовлечение мишеней и антитела, и MRD в случае HER-igfr(H) усиливает активность низкоаффинного рИФР-1 MRD более чем в 1000 раз. И напротив, указанный резкий эффект не наблюдался, когда тот же эксперимент проводили с применением антитела Zybody, содержащего антитело Хумира, которое не связывается с HER2, даже несмотря на то, что указанное антитело Zybody содержит тот же нацеленный на рИФР-1 MRD. Соответственно, биспецифические антитела Zybody проявляют повышенную активность MRD за счет обеспечиваемого авидностью гетеротипического связывания.

Пример 43. Конформационные ограничения могут повышать связывание и стабильность MRD.

Для определения эффекта конформационных ограничений на домены MRD в контексте MRD-содержащего антитела было разработано несколько модифицированных MRD-конструкций, содержащих цистеины в различных локализациях. Указанные цистеины образуют межмолекулярные дисульфидные связи и соответственно вовлечены в формирование трехмерной конформации белков. MRD, подвергавшийся изменениям в указанном эксперименте, представлял собой MPM. Последовательность MPM, представленная в табл. ниже, аналогична последовательности Im32 (описан выше), но включает четыре аминокислотных модификации: M5G, N16Q, L19A и Q24E. G в положении 5 в MPM минимизирует потенциальное окисление остатка метионина, а L19A и Q24E устраняют потенциально иммуногенные последовательности. В данных экспериментах все домены MRD соединяли с C-концом тяжелой цепи Герцептина.

Полученные мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела) затем тестируют на связывание мишени и стабильность. Стабильность определяли путем введения MRD-содержащего антитела посредством внутривенной инъекции мышам и сравнения уровней MRD в плазме через 15 мин после инъекции с уровнями MRD в плазме через 2, 3 или 4 дня после инъекции. Результаты приведены ниже в табл. 9.

Таблица 9
Связывание и стабильность пространственно ограниченных доменов MRD

Конструкция	Последовательность	EC50, нМ	% MRD, 48 ч
HER-2×-con4	AQQEECEWDPWTCEHMGSGSATGGS GSTASSGSGSATHQEECEWDPWTCEH MLE (SEQ ID NO:136)	0,018	70
HER-Im32(H)	<u>KSLSLSPGK</u> GGGSGGAQTNFMPMDND ELLLEYEQFILQQGLE (SEQ ID NO:34)	0,033	23
HER-mpm(H)	<u>KSLSLSPGSG</u> GGGSGGAQTNFMPMDQD EALLYEEFILQQGLE (SEQ ID NO:56)		19
HER-Im32 (MPM Q8C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSG</u> GGGSGGACTNFMPMDQD EALLYEEFILQQCLE (SEQ ID NO:57)	4,06	
HER-Im32 (MPM T9C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSG</u> GGGSGGAQCNTFMPMDQD EALLYEEFILQQCLE (SEQ ID NO:58)	0,598	38
HER-Im32 (MPM N10C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSG</u> GGGSGGAQTCFMPMDQD EALLYEEFILQQCLE (SEQ ID NO:67)	0,177	9

HER-Im32 (MPM F11C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSGGAQTNCMPMDQD</u> EALLYEEFILQQCLE (SEQ ID NO:68)	5,91	
HER-Im32 (MPM N10C L28C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSGGAQTFCFMPMDQD</u> EALLYEEFICQQGLE (SEQ ID NO:69)	0,403	33
HER-Im32 (MPM M5C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSCGAQTNFMPMDQD</u> EALLYEEFILQQCLE (SEQ ID NO:70)	0,0641	60
HER-Im32 (MPM M5C L28C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSCGAQTNFMPMDQD</u> EALLYEEFICQQGLE (SEQ ID NO:101)	0,109	14
HER-Im32 MPM A7C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSGGCQTNFMPMDQD</u> EALLYEEFILQQCLE (SEQ ID NO:108)	0,174	82
HER-Im32 (MPM P13C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSGGAQTNFMCMMDQD</u> EALLYEEFILQQCLE (SEQ ID NO:109)		
HER-Im32 (MPM M5C N10C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSCGAQTFCFMPMDQD</u> EALLYEEFILQQGLE (SEQ ID NO:110)	0,2	13
HER-Im32 (MPM M5C F11C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSCGAQTNCMPMDQD</u> EALLYEEFILQQGLE (SEQ ID NO:111)		
HER-Im32 (MPM D5 N10C G30C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSCFMPMDQDEALLYE</u> EFILQQCLE (SEQ ID NO:112)	0,751	3
HER-Im32 (MPM D5 N10C L28C) (H)	<u>KSLSLSPGSGGGSCFMPMDQDEALLYE</u> EFICQQGLE (SEQ ID NO:113)	0,697	36

Результаты продемонстрировали, что добавление двух остатков цистеина вне корового связывающего мишень домена (например, PMDQDEALLY в MPM) домена MRD может увеличивать период полувыведения MRD по существу без уменьшения сродства к связыванию.

Конструкции, содержащие один цистеин, расположенный возле конца молекулы (например, приблизительно через две аминокислоты от конца), и один цистеин, расположенный на противоположном конце указанного связывающего мишень домена (например, по меньшей мере приблизительно через 3 или приблизительно через 4-7 аминокислот от корового связывающего домена) и возле места присоединения белка (например, приблизительно через 4-6 аминокислот от линкера или последовательности антитела) могут демонстрировать увеличение периода полувыведения MRD по существу без уменьшения сродства к связыванию. Кроме того, домены MRD, содержащие цистеины в пределах сайта связывания мишени, в частности, на каждом конце сайта связывания мишени, могут представлять собой MRD, как отличающиеся высокой стабильностью, так и эффективно связывающие мишень.

Новые мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), домены MRD которых имеют продолжительный период полувыведения *in vivo*, и эффективно связывающие мишень, могут быть идентифицированы путем изменения последовательности MRD с включением по меньшей мере двух цистеинов. Цистеины могут быть расположены на расстоянии по меньшей мере приблизительно 6, приблизительно 7, приблизительно 8, приблизительно 9, приблизительно 10, приблизительно 11, приблизительно 12, приблизительно 13, приблизительно 14, приблизительно 15, приблизительно 16, приблизительно 17, приблизительно 18, приблизительно 19 или приблизительно 20 аминокислот друг от друга. Связывающий потенциал и период полувыведения MRD в MRD-содержащем антителе оценивают с применением известных техник и способов, описанных в настоящем документе. MRD-содержащие антитела вводят мышам внутривенно. Через непродолжительное время после введения (например, через 15 мин после введения) и в более поздний момент времени (например, через 2, 3 или 4 дня после введения) собирают плазму мышей. Идентифицируют подходящие мультивалентные и мультиспецифические композиции (например, MRD-содержащие антитела), которые и эффективно связываются с мишенью MRD, и стабильны *in vivo* (например, через 48 ч после введения присутствует по меньшей мере приблизительно 50% MRD).

Пример 44. MRD-содержащие антитела для перенаправленного Т-клеточного киллинга.

Гибридные молекулы антитело-MRD получали путем соединения нацеленного на CD3 пептида с антителом против CD19, и путем соединения нацеленного на CD19 пептида с антителом против CD3. Полученные MRD-содержащие антитела анализируют с применением проточной цитометрии на CD3-положительных клетках Jurkat, МКПК человека и ряде различных CD19-положительных клеточных линий В-клеточной лимфомы (например, SKW6.4, Blin I, BJAB, Daudi и Raji) для определения специфических показателей сродства к связыванию каждой мишени. Поскольку BL60 и линии клеток плазматомы NCI и L363 отрицательны и по CD3, и по CD19, они используются в качестве клеток отрицательного контроля для определения специфичности MRD-содержащих антител. CD3-отрицательные клетки Jurkat

могут также применяться в качестве популяции клеток отрицательного контроля. Клеточные линии культивируют на полной среде RPMI 1640 (Invitrogen) с 10% ФБС (GIBCO).

Клетки промывают ФБС и блокируют ресуспендированием в ФБС с 10% IgG человека (Innovative Research) и 0,1% NaN_3 (блокирующий буфер) в течение 30 мин при 4°C. Затем клетки осаждают центрифугированием ($100\times g$ в течение 5 мин) с последующим инкубированием с MRD-содержащими антителами в блокирующем буфере в течение 30 мин при 4°C. Клетки троекратно промывают ФБС и детектируют связанные на клеточной поверхности MRD-содержащие антитела. Проточная цитометрия может быть проведена с применением BD FACScan.

Пример 45. Цитотоксичность MRD-содержащих антител *in vitro* для перенаправленного Т-клеточного киллинга.

Биспецифические CD19/CD3 MRD-содержащие антитела анализируют в отношении способности индуцировать перенаправленный Т-клеточный киллинг CD19-положительных клеток лимфомы. Мононуклеарные клетки периферической крови человека (МКПК) выделяют в качестве эффекторных клеток из свежих лейкоцитарных пленок случайных доноров с применением градиентного центрифугирования с Lymphoprep™ (Nycomed/Axis-Shield PoC), с последующим центрифугированием при $100\times g$ для удаления тромбоцитов. CD19-положительные В-клетки истощают с применением гранул Dynabeads® CD19 Pan B (Life Technologies). Популяции МКПК анализируют с применением проточной цитометрии до и после истощения по CD19-положительным В-клеткам путем меченя ФИТЦ-конъюгированным антителом мыши против CD19 человека и дополнительного меченя ФЭ-конъюгированным антителом против CD45. МКПК инкубировали в течение ночи при 37°C с 5% CO_2 . CD19-положительные В-клеточные линии (например, SKW6.4, Blin I, BJAB, Daudi и Raji) использовали в качестве целевых клеток.

Целевые клетки инкубировали в 96-луночных планшетах на полной среде RPMI 1640 (Invitrogen) с 10% ФБС (GIBCO) при разной плотности клеток, таким образом, чтобы добавление одного и того же количества нестимулированных МКПК приводило к получению разных соотношений эффекторных и целевых клеток (Е:Т). Затем в каждую лунку добавляли различные концентрации биспецифических CD19/CD3 MRD-содержащих антител с последующим добавлением нестимулированных МКПК. Планшеты инкубировали при 37°C с 5% CO_2 в течение 3 ч. Цитотоксичность может быть измерена с помощью анализа цитотоксичности DELFIA® EuTDA (PerkinElmer) в круглодонных 96-луночных планшетах в соответствии с инструкциями производителя. Спонтанную клеточную смерть измеряют путем инкубирования целевых клеток без эффекторных клеток или MRD-содержащих антител, а максимальную клеточную смерть определяют путем инкубирования целевых клеток с 10% Triton X-100. Долю клеток, подвергшихся специфическому лизису, рассчитывают как отношение между опосредованной эффекторами цитотоксичностью ([экспериментальная клеточная смерть]-[спонтанная клеточная смерть]) и максимальной ожидаемой цитотоксичностью ([максимальная клеточная смерть]-[спонтанная клеточная смерть]).

Пример 45. Эффективность MRD-содержащих антител *in vivo* для перенаправленного Т-клеточного киллинга.

В-клетки лимфомы Raji извлекают из рутинным образом полученной клеточной культуры, промывают в ФБС и получают состав с плотностью 1×10^7 клеток/мл. Затем мышам NOD/SCID подкожно инокулируют 1×10^6 клеток Raji с 5×10^6 МКПК или без МКПК (полученных в соответствии с приведенным выше описанием) в 50% растворе Matrigel. Биспецифические CD19/CD3 MRD-содержащие антитела вводят внутривенно через 1 ч после инокуляции клеток лимфомы. В качестве отрицательного контроля через 1 ч после инокуляции клеток лимфомы также вводят внутривенно биспецифические MRD-содержащие антитела, направленные на HER2 и CD3 (т.е. связывающий CD3 MRD, соединенный с антителом против HER2, и связывающий HER2 MRD, соединенный с антителом против CD3), HER2 и CD19 (т.е. связывающий CD19 MRD, соединенный с антителом против HER2, и связывающий HER2 MRD, соединенный с антителом против CD19), и ФБС. MRD-содержащие антитела или ФБС вводят один раз в сутки в течение четырех дней после введения начальной дозы. Подкожные опухоли измеряют калипером для определения скорости роста в каждой экспериментальной группе. Также дважды в неделю измеряют массу тела мышей в качестве индикатора переносимости лечения.

Пример 46. Антитела Zybody, несущие агонизирующие DR5 домены MRD на разных mAb-скаффолдах.

С применением анализа жизнеспособности клеток оценивали цитотоксические эффекты нескольких антител Zybody (а именно, MRD-содержащих антител), проявляющих разные валентности агонизирующих DR5 (TNFRSF10B/TRAILR2) MRD на трех разных mAb-скаффолдах. Вкратце, восемь серийных разведений антител Zybody (5-кратных, начиная с 30 мг/мл) инкубировали с 10^4 клеток COLO-205 в лунках 96-луночного планшета, содержащих 100 мл среды RPMI с добавлением 10% ФБС. Через 48 ч жизнеспособность клеток измеряли посредством анализа Cell TiterGlo® (Promega). Результаты, представленные на фиг. 36А, показывают, что тетравалентное антитело Zybody 2 $\times$ dr51m(H)-TRA, содержащее четыре копии направленных на DR5 MRD, соединенных со скаффолдом на основе моноклонального антитела трастузумаба, продемонстрировали более высокую цитотоксическую активность по сравнению с бивалентными антителами Zybody dr51m(H)-TRA, dr51m(L)-TRA и TRA-dr51m(H). Указанные результа-

ты демонстрируют, что увеличенная валентность агонизирующих DR5 доменов MRD коррелирует с увеличенным киллингом клеток, опосредованным рецептором с доменом смерти DR5.

Для дополнительного исследования валентности на опосредованную DR5 клеточную цитотоксичность, два октавалентных антитела Zybody (2×dr51m(L)2×dr51m(H)-HER и 2×dr51m(L)2×dr51m(H)-PAL, содержащие скаффолды на основе моноклональных антител трастузумаба и паливизумаба, соответственно) анализировали на способность к киллингу опухолевых клеток COLO205 по сравнению со сконструированным аналогичным образом тетравалентным антителом Zybody, обладающим такими же видами специфичности.

Октавалентные антитела Zybody 2×dr51m(L)2×dr51m(H)-HER и 2×dr51m(L)2×dr51 m(H)-PAL, содержащие 8 копий направленного на DR5 MRD, продемонстрировали более высокую цитотоксическую активность по сравнению с тетравалентными антителами Zybody 2×dr51m(H)-HER и 2×dr51m(H)-PAL (фиг. 36B-C). Указанные результаты дополнительно подтверждают корреляцию между увеличением валентности связывания DR5 и повышенной цитотоксической активностью (т.е. клеточной смертью).

Для исследования эффекта дополнительных видов специфичности, направленных не на DR5, на цитотоксичность антител Zybody на основе DR5, нацеленный на Her2 MRD (eb18) соединяли с С-концом тяжелой цепи трастузумаба с получением триспецифического тетравалентного DR5-антитела Zybody, 2×DR5(H)-TRA-eb18(H). MRD eb18 был выбран, поскольку он связывает her2 через эпитоп, отличный от распознаваемого трастузумабом. Мультиэпитопный таргетинг her2 повышал цитотоксичность антитела Zybody (фиг. 36D). Указанные результаты демонстрируют, что антитело Zybody, способное к мультиэпитопному таргетингу рецепторов, отличных от DR5 (her2), усиливает цитотоксическую активность тетравалентных нацеленных на DR5 доменов MRD.

Для дополнительного исследования эффекта мультиспецифичности на цитотоксическую активность антител Zybody на основе DR5 нацеленный на рЭФР MRD (eb13) соединяли с С-концом тяжелой цепи цетуксимаба (антитела против рЭФР) с получением триспецифического тетравалентного DR5-антитела Zybody, 2×DR5(H)-CET-eb13(H). MRD eb13 был выбран, поскольку он связывает рЭФР через эпитоп, отличный от распознаваемого цетуксимабом. Мультиэпитопный таргетинг рЭФР повышал цитотоксичность антитела Zybody (фиг. 36E). Указанные результаты демонстрируют, что антитело Zybody, способное к мультиэпитопному таргетингу отличных от DR5 рецепторов (рЭФР), усиливает цитотоксическую активность тетравалентных нацеленных на DR5 доменов MRD.

Для исследования эффекта специфичности mAB-скаффолда на активность антител Zybody на основе DR5 сравнивали цитотоксическую эффективность трех антител Zybody, отличающихся тем, что каждое антитело Zybody конструировали с одними и теми же нацеленными на DR5 доменами MRD на разных скаффолдах; цетуксимабе (CET), трастузумабе (TRA) и паливизумабе (PAL). Результаты показывают, что mAB-скаффолд антитела Zybody может влиять на кажущуюся цитотоксическую эффективность нацеленных на DR5 доменов MRD (фиг. 36F).

Пример 47. Специфичность Ang-связывающих MRD в отношении Ang1, Ang2 и Ang4.

Специфичность выбранной группы Ang2-связывающих пептидов, экспонируемых на фагах, в отношении Ang1, Ang2 и Ang4 оценивали в ИФА-анализе ELISA прямого связывания. Вкратце, планшеты для ELISA покрывали заданным белком в концентрации 0,1 мкг/мл в ФСБ. Планшеты блокировали и добавляли фаговые супернатанты в разведении 1:10 в блокирующем буфере. Несвязанный фаг удаляли, промывая ФСБ с 0,1%Tween, связанный фаг детектировали с применением HRP-конъюгированного моноклонального антитела против M13. Анализировали следующие пептиды:

ANG100 (SEQ ID NO:621), ANG126 (SEQ ID NO:232); ANG129 (SEQ ID NO:234); ANG156 (SEQ ID NO:255); ANG157 (SEQ ID NO:256); ANG163 (SEQ ID NO:261); ANG179 (SEQ ID NO:270); ANG200 (SEQ ID NO:628); ANG303 (SEQ ID NO:331); ANG318 (SEQ ID NO:625); ANG335 (SEQ ID NO:332); и ANG599 (SEQ ID NO:367).

Эти данные показывают, что все Ang-связывающие пептиды связывают Ang2, но отличаются по относительному связыванию с Ang1 и Ang4 (фиг. 37). Указанные данные демонстрируют, что точная специфичность связывающих Ang пептидов может отличаться у разных пептидов. Перекрестная реактивность доменов MRD в отношении представителей семейства Ang может использоваться при заболеваниях, характеризующихся дифференциальной экспрессией представителей семейства Ang.

Пример 48. Идентификация примеров связывающих мишени доменов MRD.

Приведенные ниже примеры связывающих мишени доменов MRD были идентифицированы с применением процедуры по существу соответствующей описанию в настоящем документе.

Таблица 10
Связывающие ANG2 домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикации онный номер	Пептидная последовательность	162	ANG40	YCWVIAKSCVGGQAGQGG GGGGSICRHYVWRCE
			163	ANG41	LCWNHWWMCD
136	ANG2	SACDHPMNNKCG	164	ANG42	MCTWQFMVCPGQAGQGG GSGGSYCWEYVYRCD
			165	ANG43	MCWNHWWMCE
137	ANG4	SACGTFTHPQCG	166	ANG46	HCIFNFPACI
138	ANG6	SACHPMAPKSCG	167	ANG47	LCFNHWWMCP
139	ANG7	SACGSYNHPMCG	168	ANG49	MCIYWKEPWCY
140	ANG8	SACGSYEHMCG	169	ANG50	WCDHTEAWPECF
141	ANG10	SACQSSVCFVRWRF	170	ANG51	ECYWYPNPMWCY
142	ANG12	SACHPLIHNRCG	171	ANG52	HCPWGTMTNCV
143	ANG18	TCIFNFPACI	172	ANG54	ECTDYPEWRYCQ
144	ANG19	FCDEYTPAWCW	173	ANG55	ECFFFPNPWHCY
145	ANG20	MCPDFGMFIYCI	174	ANG56	PCAWFPNPSFCY
146	ANG22	QCQEVISACFGQAGQGGG S GGSQCWLMELVCL	175	ANG58	MCPWWYDHLHCY
147	ANG23	KCPDMWPQCW	176	ANG59	MCPIWYDHWCH
148	ANG24	KCPDMWPMCW	177	ANG61	ECWWYYNHFWCH
149	ANG25	QCEWIWVACDGQAGPAG FCYEHMLMCA	178	ANG62	ECAWFPNPWCCY
150	ANG26	RCYEVWWDCA	179	ANG63	GCWHDGFMCF
151	ANG27	ACIPDLFLCM	180	ANG64	WCDHWIVWPECW
152	ANG28	QCMWMWYQCR	181	ANG65	QCNDYPNWRYCF
153	ANG29	KCPDMWPECW	182	ANG66	PCAWYPNPEFCY
154	ANG30	PCQYWWVLCP	183	ANG67	LQYEEFYDHV
155	ANG31	LCWNHWWMCE	184	ANG68	QCPYRINHQRCS
156	ANG32	FCHEYTPACCW	185	ANG69	DCVWFNPDPWCY
157	ANG33	KCPDFWPECW	186	ANG70	FCALFPYMFCE
158	ANG34	ECYHHWPECM	187	ANG71	DGSPCAWFPNPSFCY
159	ANG35	RCPDMWFPACW	188	ANG72	VCPWWYDHWLCS
160	ANG37	ICIYWKDPWCY	189	ANG73	ECDGWEYHYFCW
161	ANG38	KCPDLWPQCY	190	ANG74	YCPLCQYHYGCF
			191	ANG75	SCWWYPNPQWCY
			192	ANG76	ECYFLVNMEWCQ
			193	ANG77	TCWFWELEFFCI

194	ANG78	KCYWFPNPIECY	220	ANG11	ICPWWYDHYTCF
195	ANG79	DCAWFPNPAWCH	0		
196	ANG80	HCPYWYDHELCH	221	ANG11	ACDWFQNPYVCW
197	ANG81	YCPQWYDHWLCT	1		
198	ANG82	NCWEYPNPAWCY	222	ANG11	PCAWYPNPAECY
199	ANG83	ECDGWEYHYVCW	2		
200	ANG84	ECYWYPNPWFCY	223	ANG11	ECPFWYDHYMCM
201	ANG85	DCVDYPGWEYCV	3		
202	ANG86	ECYMLHACYDEGH	224	ANG11	PCHWFPNPTECY
203	ANG87	WCDRGTYVMFCD	4		
204	ANG88	TCPVWDDYWCW	225	ANG11	ECYTFPNPQFCY
205	ANG89	WCDYGTYYVQCE	6		
206	ANG90	HCYWHPSPSWCY	226	ANG11	SCYSYPNPAWCY
207	ANG91	QCYWFPNPLECY	8		
208	ANG93	QCKWFPNPKECY	227	ANG11	ECYWYPNPHWCR
209	ANG94	PCPYFNRQHCV	9		
210	ANG95	ICYVYGLEEWCI	228	ANG12	HCYWHPSPNWCR
211	ANG98	HCPLWYDHYFCA	0		
212	ANG10	ACAWYPNPVECY	229	ANG12	HCPDWYNHQLCP
1			1		
213	ANG10	ECAIYPNPQWCY	230	ANG12	ACVWFPNPDWCY
2			2		
214	ANG10	DCYYYPNPSPWCW	231	ANG12	LGPVLLECYFYFNPQHCHY
3			3		
215	ANG10	DCYYFNPQWCF	232	ANG12	VPIDCYFYFNPPECYLHN
4			6		
216	ANG10	QCPWWYDHYWCN	233	ANG12	GYRDCYFYFNPBRHCYGS
6			8		
217	ANG10	FCDFYDYHYVCF	234	ANG12	VVVEFWECYVYPNPPHCY
7			9		
218	ANG10	VCPYWWDHWLCL	235	ANG13	LVNDCFFPNPPHCYVSS
8			0		
219	ANG10	MCPFWYDHELCH	236	ANG13	RMADCYFYFNPQHCHYTEG
9			1		

237	ANG13 2	DEQACYFYNPAPHCYQRD	254	ANG15 4	GEYDCYFYNPPHCYDRN
238	ANG13 3	FLGAMMDCYFFPNPPHCY	255	ANG15 6	LHVDCYFYNPPHCYIDE
239	ANG13 4	VYQDCYNFPNPVHCYRTT	256	ANG15 7	QDHDCYFYNPPHCYLEG
240	ANG13 5	LVDYSMDCYFFPNPPHCY	257	ANG15 8	HFSDCFFYNPQHCYHMM
241	ANG13 6	HSLIYHDCYFYNPPHCY	258	ANG15 9	PIEDCYFYNPNRHCYLQP
242	ANG13 7	LLSVLLECYFYNPPHCY	259	ANG16 0	ECCYCYNYDTWSHCCQK G
243	ANG13 8	PTDVLLECYLYPNPPHCY	260	ANG16 1	VVLPSYDCYFYNPPHCY
244	ANG13 9	SLPLRAFCYFPPNWPHCY	261	ANG16 3	VPWDCYFYNPPHCYEDA
245	ANG14 2	TDTDCYFFPNPPHCYSPG	262	ANG16 4	FVSSAFDCYFYNPAPHCY
246	ANG14 3	IYDDCYIFPNPHHCYVGF	263	ANG16 5	ALVECYFYNPPLHCYNTS
247	ANG14 4	PWHECYWYPNPPHCYGIL	264	ANG16 6	FWYSLDDCYFYNPNSHCY
248	ANG14 5	MPLIFSECYSYPNPPHCY	265	ANG16 9	RSNLMTDCYYPNPPHCY
249	ANG14 8	GNFAHEECYFYNPAPHCY	266	ANG17 2	QLVDCLYYPNPPHCYESM
250	ANG14 9	QPRLLHDCYFYNPNSHCY	267	ANG17 4	WDVDCGFFNPAPCYELG
251	ANG15 0	NPTDCYFYNPQHCYNW G	268	ANG17 5	LQGRMIDCYSYPNPPHCY
252	ANG15 1	YPFFLVDCYFFPNPLHCY	269	ANG17 6	QRDPLAACIYYPNPPHCY
253	ANG15 3	SVAHVHGLLLLPESDALL	270	ANG17 9	LLWECYFYNPNSHCYTDR

271	ANG18 0	QDIDCYFYPNPPHCYHVT	288	ANG21 1	KCPLLPDWLSCLEWQLME
272	ANG18 2	RLHDCYFYPNPPHCYLWQ	289	ANG21 5	KCPLLPDWVPCHEWLNW
273	ANG18 3	SLTTFIDCYFYPNPPHCY	290	ANG21 7	AMSLCPLLPDWASCNDYL
274	ANG18 6	SSGPDIDCYFYPNPPHCY	291	ANG21 8	LCPRLPDWVSCHTWLERY
275	ANG18 7	DCYFYPNPLYCYEDWDYT	292	ANG21 9	LSTKCPLLPDWVSCHEWL
276	ANG18 8	IWLDCYFYPNPPHCSLNS	293	ANG22 0	LGWTELKCPLLPDWATCN
277	ANG18 9	QWNDCYFYPNPPHCYGR Q	294	ANG22 2	KCPLLPDWVSCHEWNVW L
278	ANG19 0	GHMDCYYPNPSHCYQQ L	295	ANG22 3	KCPLLPDWISCAQWQRAV
279	ANG19 2	WLSQCYSYPNPPHCYTLF	296	ANG22 4	VGSLCPLLPDWASCHEWL
280	ANG19 3	SSLHMLDCYYPNPPHCY	297	ANG22 5	RCPFLPDWLSNEWLMIE
281	ANG19 4	QSLSFLDCYFYPNPLHCY	298	ANG22 8	WYRKCPLLPDWVSCHEW Y
282	ANG19 7	NYYYCYLSPNPPHCYLSF	299	ANG22 9	TTLNCPLLPDWLTCQEFL
283	ANG19 8	HFSDCYFYPNPPHCYESI	300	ANG23 1	KCPLLPDWASCESWLEVR
284	ANG19 9	EVLDCFFYPNPPHCYKAL	301	ANG23 2	HLDKCPLLPDWISCTDWL
285	ANG20 1	RDIDCYFYPNPAHCYLG	302	ANG23 3	KCPLLPDWVTCDEFQGM Q
286	ANG20 3	KCPMLPDWVSCDEWMLQ K	303	ANG23 9	ATSKCPLLPDWVSCDEHL
287	ANG21 0	LSLKCPLLPDWISCDEYY	304	ANG24 1	SSGKCPLLPDWKSCDEWL

305	ANG24 2	KCPLLPDWVSCHEWNIRE	322	ANG27 2	TAFKCPPLPDWVSCLDWL
306	ANG24 5	KCPLLPDWFSCHEYQEMF	323	ANG27 4	KCPLLPDWVSCQEWLSSK
307	ANG24 6	KCPLLPDWVSCHTYLEES	324	ANG27 5	HYDKCPLLPDWVSCHEFL
308	ANG24 7	EPPKCPMLPDWVSCDTWL	325	ANG27 7	GLRKCPVLPDWVSCDNW L
309	ANG24 8	DVPHQLNCPLLPDWAACL	326	ANG27 8	SGFKCPLLPDWVSCDCT
310	ANG24 9	EISKCPLLPDWVSCYQWL	327	ANG27 9	LASKCPLLPDWISCQTWL
311	ANG25 0	MNVKCPLLPDWVSCLDY L	328	ANG28 0	KCPLLPDWVSCDQWRLE
312	ANG25 2	MLMKCPLLPDWASCDVW L	329	ANG28 1	YFDKCPLLPDWLTCHEW M
313	ANG25 6	LMHECPLLPDWVSCHTFL	330	ANG28 4	LPSKCPLLPDWTSCDEYL
314	ANG25 7	KCPLLPDWVSCETYLNGD	331	ANG30 3	KSVSMKTCQDYPGWRYC Q
315	ANG25 8	KCPLLPDWVSCDMYLERQ	332	ANG33 5	VNVFLKTCQDYPGWRYC H
316	ANG25 9	KCPLLPDWASCDQWNEW N	333	ANG33 9	PWPDPCVYRYCRHCHHK T
317	ANG26 3	YVSKCPFLPDWVSCHGWL	334	ANG35 5	TGSTAKYCQDYPGWRYC H
318	ANG26 6	KCPFLPDWVSCHDYSQKY	335	ANG35 8	LPMECYFYPNPEHCYLVP
319	ANG26 7	FPPKCPLRPDWVSCHERH	336	ANG37 0	TYTKCMTYPNPQYCFKHS
320	ANG26 9	ECPLLPDWVSCHEWNRLH	337	ANG37 1	RFLECAWFPTYFCHSE
321	ANG27 0	SPVKCPFLPDWISCDLYL	338	ANG37 4	QYDPCEYYIPC VKWG

339	ANG37 5	GFHRCSTFPNPHYCYKTH	356	ANG39 5	RYSLCMTYPNPYQCYKSN
340	ANG37 6	RWSYCEETMIGYPYCFTR P	357	ANG39 6	PHVICHYWKHPWCFHNS
341	ANG37 7	AAFMLSCHSTDGQSWAC MESH	358	ANG39 7	PWFSCYYFPNP SHCMDVV
342	ANG37 8	RSFECRWQPEHPICAKGV	359	ANG39 8	LYDRCVCFPNLFWCEMTT
343	ANG38 0	ILLRCAWYPAPPWCNIET	360	ANG39 9	RSLACEFHPQKYHVQCAL PH
344	ANG38 1	PHVICHYWKHPWCFQNS	361	ANG40 0	NTRLRCYSGVLVDAMVCFT SG
345	ANG38 2	VFYRCMKWPNPWWCYSQ P	362	ANG40 3	QYDPCEYDIPCVKWG
346	ANG38 3	GFQRCKTFPNPHYCYKTH	363	ANG40 4	SWAQCYAYPNPDFCNRS
347	ANG38 4	DWSKCPKYPNPEWCYHPS	364	ANG40 5	PYEKCMTYPNPWYCF LTD
348	ANG38 5	TYTKCMTYPNPQYCFKHN	365	ANG40 6	PYERCTKHPNPTYCWKNL
349	ANG38 7	SMWGCHMQPNYRECSLW I	366	ANG40 7	MYAMCQWHPSPEQCRSPS
350	ANG38 8	PHVICHYCPHPWCFLNS	367	ANG59 9	KCP LLPDWASCR
351	ANG38 9	LELPCGKYPNMWFCYKV A	368	ANG63 7	TYLQIIECYFYPNPPHCY
352	ANG39 0	KERPCVWWKQPWCFQAS	369	ANG63 8	LTPSGSDCYFYPNPLHCY
353	ANG39 1	QWFERCYEFEPDWCRVRS	370	ANG63 9	GAYDCYFYPNPPHCY GTT
354	ANG39 3	EWAFCYSYPNPDYCHEAV	371	ANG64 0	YLNHNYECYFFPNPTH CY
355	ANG39 4	TYRKCMTYPNPHYCFKHS	372	ANG64 1	GFLT FYDCYFFPNPPHCF

373	ANG64 2	TFIDCYFYPPHPCYALW	390	ANG66 0	FNYSMYDCYFYPPHPCY
374	ANG64 3	ASDILLDCYFFPPHPCR	391	ANG66 1	LVLPLFDCYFYPPHPCY
375	ANG64 4	LPLSWSDCYFYPPHPCY	392	ANG66 2	FHFVLYDCYFYPPPYCF
376	ANG64 5	ALLDCYFYPPHPCYITM	393	ANG66 3	HRADCYFFPPMDCYQW R
377	ANG64 6	GMLDCYFYPPHPCYLDR	394	ANG66 4	STNLALDCYFYPPHPCY
378	ANG64 7	SGTECYFYPPHPCYSSD	395	ANG66 5	SPNDCYFYPPPECYTHR
379	ANG64 8	SLEDCFFYPNPTLCYNG	396	ANG66 6	IVITSLACYFYPPHPCY
380	ANG64 9	AFSRFLDCYFYPPQHPCY	397	ANG66 7	GGVPMTDCYFYPPRHPCY
381	ANG65 0	GVYSFLECSFFPPPYCY	398	ANG66 8	DFRDCYSFPNPTQCYINT
382	ANG65 1	EEGSSDCYFYPPRHPCY	399	ANG67 0	WPTDCFFPPHPCYHDG
383	ANG65 2	LTLLDDCYFYPPHPCY	400	ANG67 1	HILDCYFYPPHPCYLV
384	ANG65 3	LFHSMTDCYFYPPRHPCY	401	ANG67 2	DEADCYYPNPPHPCYSGH
385	ANG65 4	REQDCFFYPNPPHPCYVDN	402	ANG67 3	TLVSMMDCYYPNPPHC Y
386	ANG65 5	ASLGLYDCYYPNPPNCY	403	ANG67 4	QSVRYMDCYFYPPSHCY
387	ANG65 7	RTGTLGDCYFYPPRHPCY	404	ANG67 5	WYDPYYACYFYPPNPTYC Y
388	ANG65 8	SPLDCYFYPPHPCYYAH	405	ANG67 6	LSGPFLDCYFYPPNTHCY
389	ANG65 9	IEGDCYFYPPHPCYEQN	406	ANG67 7	VMLDCYFYPPPLDCYWL T

407	ANG67 9	SSLEHNDCYFYPNPMHCY	424	ANG69 7	GADTMQWNDYFFPNPT HCY
408	ANG68 0	RHVDCYFYPNPPHCYLV	425	ANG69 8	HIKDCYFFPNPPHCYKST
409	ANG68 1	IYPECYFYPNPKSCYSDQ	426	ANG69 9	PHQRHLECYFYPNPPECY
410	ANG68 2	PPTSLADCYFFPNPLHCY	427	ANG70 0	SYLDFTDCYFYPNPPHCY
411	ANG68 3	LLAACYFYPNPPLCFTST	428	ANG70 1	APGYTQDCYWFNPPPHCY
412	ANG68 4	GEEDCYFYPNPPHCYSEL	429	ANG70 2	RFSSFHDCYFYPNP SHCY
413	ANG68 5	ECYFYPNPPHCYMEHRST	430	ANG70 3	HSHHLTDCYFYPNPLHCY
414	ANG68 6	TEIECYFYPNPPQCYAIH	431	ANG70 4	AQVDCYFFPNPTH CYFDR
415	ANG68 7	PRMDCYFYPNPPHCYNGQ	432	ANG70 5	MGDDCYFYPNPPRCYVKP
416	ANG68 8	MSLPHQNCYFFNPPTYCY	433	ANG70 6	FLADCYLFPNPPHCYLDY
417	ANG68 9	YGDECYFFPNPPHCFSWD	434	ANG70 7	LGEDCYWYPNPPHCYGM L
418	ANG69 1	FFESSFDCYFFPNPNHCY	435	ANG70 8	NDSVVSECYFFPNPPHCY
419	ANG69 2	MLVVPSDCYFYPNP SHCY	436	ANG70 9	DCYFYPNPPSCYEVQGAS
420	ANG69 3	LQVDSLDCYFYPNPPHCY	437	ANG71 0	GPWECFFYPNPLHCFKEP
421	ANG69 4	QLMDCYFFPNPHHCFESK	438	ANG71 1	PSADFAECFFYPNPPQCY
422	ANG69 5	DCYFYPNPPHCYNERYEA	439	ANG71 2	ASNDIHDCYFYPNPPHCY
423	ANG69 6	SDMDCYFYPNPPHCFTPP	440	ANG71 3	SDTDCYFYPNPPHCYWDT

441	ANG71 4	AFVHCYFFPNPQHCHYHRL	458	ANG73 6	DETECYWFPSPAHCHYKDS
442	ANG71 5	MIFDCYFFPNPRHCHYHEG	459	ANG74 0	LGLDCYFYFNPDPCHYHDA
443	ANG71 6	SYFLTWDCHYFNPPPHCHY	460	ANG74 1	FDEDCYFYFNPPPHCHYLLS
444	ANG71 8	TGFECYFYFNPPRHCHYNDI	461	ANG74 2	EHEACYFYFNPPPHCHYESS
445	ANG71 9	LYPSLLDCYFYFNPPTHCHY	462	ANG74 3	PSYNIFECFFFPNPPHCHY
446	ANG72 1	MVDECYFYFNPPPHCHYSNT	463	ANG74 4	SESDCYFYFNPPPHCHYAVV
447	ANG72 2	PLRSYMDCHYWPNPPHCHY	464	ANG74 5	HPFDCYFYFNPPPHCHYTRS
448	ANG72 3	WLGRLSDCHYFYFNPPPHCHY	465	ANG74 6	LILDCYFYFNPPPHCHYTST
449	ANG72 4	FHIDCYFYFNPPPHCHYTGA	466	ANG74 7	YEFRWTDCHYFYFNPPPHCF
450	ANG72 6	NFRECVFYFNPPPHCHYDFG	467	ANG74 8	QSQNVVECYFYFNPPPHCHY
451	ANG72 7	KEIDCYFYFNPPPHCHYGKW	468	ANG74 9	YRLDLSECYFYFNPPLHCHY
452	ANG72 8	TNQDCYFYFNPPPHCHYFRDH	469	ANG75 1	IPLDCYFYFNPSPCHYHSY
453	ANG73 0	SNAQCYFYFNPPLHCHYKNA	470	ANG75 2	AASQTSDCHYFYFNPSPCHY
454	ANG73 1	DCYFYFNPPPHCHYTVEGGK	471	ANG75 5	THLDCYFYFNPPPHCHYSST
455	ANG73 2	QPMDCFFYFNPPPHCHYAE	472	ANG75 6	NTNDPFDCFFYFNPPPHCHY
456	ANG73 3	IVSREYDCYFYFNPPTHCHY	473	ANG75 7	IHKLDLDCYFYFNPPPHCHY
457	ANG73 4	SMHDCYFYFNPPTHCHYRGT	474	ANG76 2	FSHPFTDCFFYFNPQHCHY

475	ANG76 3	TVYDCYFYPNPGHCYLQL	492	ANG78 7	LLVDCYYPNPPTHCSKNS
476	ANG76 5	MVFHELDCYFYPNPPHCY	493	ANG78 8	DCYFYPNPPHCYHDNEIE
477	ANG76 6	HSLHWDYFYPNPSHCY	494	ANG79 0	PLLPFYDCYFYPNPSHCY
478	ANG76 7	QLRECYWFPNPSHCYIES	495	ANG79 1	LVVDCYFYPNPPHCYDYS
479	ANG76 9	GLVDCYFYPNPPHCYWPH	496	ANG79 3	RPSMHMECYFYPNPPYCY
480	ANG77 1	LFENSLGCYFFPNPPHCY	497	ANG79 5	GFLTSLDCYFYPNPPHCY
481	ANG77 3	FPPWFQDCFFYPNPPVCY	498	ANG79 7	EVPDCYYPNPPPHCYEAN
482	ANG77 4	HALECYFYPNPLHCYTQP	499	ANG79 8	RISSMVECYFYPNPPHCY
483	ANG77 5	DPVDCYFYPNPAHCYSTV	500	ANG79 9	PFSVITECYFYPNPPHCY
484	ANG77 6	IVVYSADCFYFYPNPRHCY	501	ANG80 0	PSADLLDCYFFPNPPHCS
485	ANG77 7	RMFDCYFYPNPPLCYNHI	502	ANG80 1	QQADHIDCYFYPNPPYCY
486	ANG78 1	LWYTTVNCYFCNPLHCY	503	ANG80 2	STHDCFLYPNPPHCYWPQ
487	ANG78 2	DYLSMLECYFYPNPSHCY	504	ANG80 3	VASWKYDCYFYPNPLHC Y
488	ANG78 3	FMTSGVECYFYPNPPHCY	505	ANG80 4	VDIDCYFYPNPPNCYNKA
489	ANG78 4	LFLNPYDCYFYPNPPQCY	506	ANG80 5	LLDRFLDCYFYPNPSHCS
490	ANG78 5	HQMTQIECYFFPNPQHCY	507	ANG80 6	ECYFYPNPAHCYTGTNKE
491	ANG78 6	PWSPCYWYPNPRFCYEAS	508	ANG80 7	LPHPHLDCYFYPNPAFCY

509	ANG80 8	SYVDTTDCYFYPNPQHCHY	526	ANG82 9	VEEACYFYPNPPHCYEAV
510	ANG80 9	PPLDCYFYPNPPNPLYGQ	527	ANG83 2	DDSDCFYFYPNPPRCYETY
511	ANG81 0	WINDCYFYPNPSHCFVGD	528	ANG83 4	YYYSYTHCYYPNPTHCHY
512	ANG81 1	YGTDCYFFPNPRNCYKIN	529	ANG83 5	MTWFPNDCYFYPNPPYCY
513	ANG81 2	YSTDCYFYPNPPHCYGPH	530	ANG83 6	LQLECYYPNPTHCYETR
514	ANG81 3	PFSSFFDCYFYPNPHHCY	531	ANG83 7	MGISFLDCYFFPNPQHCHY
515	ANG81 4	YVGHMLDCYFYPNPPHCY	532	ANG83 8	PSPYYSDCAWYPNPPYCY
516	ANG81 5	SMYDCLYFPNPPHCYIQN	533	ANG84 0	SMSVYIDCFYPNPPRCY
517	ANG81 6	FTQPMVDCYFYPNPPHCY	534	ANG84 1	DCYFYPNPTHCYLKGGFV
518	ANG81 7	FNSTLFDCFFYPNPMHCY	535	ANG84 4	DHSACYAFPNPSSCYNSR
519	ANG82 0	RSLPIYECYFYPNPPHCY	536	ANG84 5	PLNACYFYPNPPHCYFLK
520	ANG82 2	VSLYYSACYFYPNPPWCN	537	ANG84 6	LLSVMQDCYFYPNPSHCHY
521	ANG82 3	SVLDCYFYPNPAHCYENV	538	ANG84 7	PPSSYECYFYPNPAHCY
522	ANG82 4	VSTDCYFYPNPPHCYSVL	539	ANG84 8	SHTDCYYPNPPHCYLEN
523	ANG82 5	QGTHTMLDCYFYPNPPNCHY	540	ANG84 9	AGHECYFYPNPPHCYSEQ
524	ANG82 6	TPSDCFYFYPNPPHCYLMN	541	ANG85 0	AGMNDFDCYFFPNPPHCF
525	ANG82 7	TWGVCFYFYPNPPHCYEQ	542	ANG85 3	GSRDCYFYPNPKYCYIQD

543	ANG85 4	SDSFLRDCYFYPNPPHCY	560	ANG87 9	SNVDCYFYPNPPNCFVHD
544	ANG85 5	AWKDCFFYPNPSFCSYSS	561	ANG88 0	VLSEFFQDCYFYPNPANCY
545	ANG85 6	PSLYELDCYFYPNPPHCY	562	ANG88 1	SPPVFWECYFYPNPTHCY
546	ANG85 7	YLHSFEDCYFYPNPAHCY	563	ANG88 2	PNQSNYDCYFYPNPPHCY
547	ANG85 8	LTIEHQDCYFYPNPPHCY	564	ANG88 3	LAFDLSDCYFYPNPPHCS
548	ANG86 1	YVMGGDDCYFYPNPPECY	565	ANG88 4	FNEECYFYPNPPHCYGEY
549	ANG86 2	GNIACYFYPNPPHCYNVH	566	ANG88 5	LVVTAEDCYFYPNPPYCY
550	ANG86 3	SGMECYFFPNPPHCYDLK	567	ANG88 6	SLNPSVDCYFYPNPAHCY
551	ANG86 6	LGLRHYACYLYPNPPHCY	568	ANG88 7	ALHDCYFYPNPQHICYQA
552	ANG86 7	ARSSQFECYFYPNPPHCY	569	ANG88 9	FSPGEVDCYFYPNPPHCK
553	ANG86 9	YPGPFTGCYFYPNPLQCY	570	ANG89 0	ADTDCYFYPNPPHCYDIT
554	ANG87 1	NERDCYFYPNPPHCYQNG	571	ANG89 1	LSLELSECYFFPNPPHCY
555	ANG87 2	LDSECCFYPNPPHCYNTL	572	ANG89 4	AVLEHFDCYFYPNPPHCY
556	ANG87 3	PYLDCAEYPNPLYCYESE	573	ANG89 5	MLWDMSGCYFYPNPPHCY
557	ANG87 4	IGYPFSDCYFYPNPPHCY	574	ANG89 6	SKQDCYFYPNP SHCYLDQ
558	ANG87 5	WNFDCYFYPNPPLCYNME	575	ANG89 7	YDLLLHDCYVFPNPPHCY
559	ANG87 7	AAVECLFYPNPPHCYERA	576	ANG89 8	ECYFYPNPDCFYLHQRR

577	ANG89 9	DHVECYFYFNPPLHCYKDR	594	ANG92 0	ISTRNTDCYFYFNPPPHCY
578	ANG90 1	PRPLVIDCYFFPNPPHCY	595	ANG92 3	FYYDCFFYFNPNNCYNF
579	ANG90 2	DCYFYFNPPPHCYIEHKPS	596	ANG92 4	FSHLEQDCYFYFNPPPHCY
580	ANG90 3	SHFSFKDCYFYFNPAAHCY	597	ANG92 5	SPVDCYFYFNPPPHCYDWD
581	ANG90 4	SLRDCYFYFNPAAHCRNNM	598	ANG92 6	PYQLMTDCYFFPNPPHCY
582	ANG90 6	YGNECYFFPNPPHCYHRD	599	ANG92 9	ESFQNMDCYFYFNPYPYCY
583	ANG90 7	DTLDCYFYFNPPPHCYSSQ	600	ANG93 0	PRKSFHDCYFYFNPPPHCY
584	ANG90 9	QWNPYHCHFFYFNPPPHCY	601	ANG93 2	SWPNHMECYFFPNPPHCY
585	ANG91 1	TSLDCYFYFNPPPHCYETP	602	ANG93 4	KSVGNTDCYFFPNPPHCY
586	ANG91 2	KWARGMECHFFYFNPDPDCY	603	ANG93 5	TIYDCYIYPNPRHCYKLN
587	ANG91 3	RLVDCYYPNPLHCYDRS	604	ANG93 6	ECYFYFNPPPHCYHALTSK
588	ANG91 4	THKDCYFFPNPPHCYTKT	605	ANG93 7	FYQSWVDCYFYFNPPPHCS
589	ANG91 5	PLKDCYFYFNPPLHCYLV	606	ANG93 9	YALDLGGCYWFPNPPHCY
590	ANG91 6	APHILQDCYFYFNPPRHCY	607	ANG94 0	SIFLSLDCYFFPNPSNSL
591	ANG91 7	LSILYPSCYFYFNPPEHCQ	608	ANG94 2	GVYSFDQCYVFNPDPDCY
592	ANG91 8	ECYFYFNPPECYNVDDQA	609	ANG94 3	VVLHYGDCYYPNPPYCY
593	ANG91 9	ECYFYFNPPPHCYVLKQOI	610	ANG94 4	RALDCYFYFNPQHCYQGI
611	ANG94 5	SPHECYFYFNPPPHCYADR	616	ANG95 1	GSALLSDCYFYFNPPPHCY
612	ANG94 6	DVQIEFDCYFYFNPYPYCY	617	ANG95 2	SVLALEDYFYFNPPHCY
613	ANG94 7	YPMNSHDCYFYFNPQQCY	618	ANG95 4	PTAVLMECYFYFNPDPYCY
614	ANG94 8	SPAHCSCFPFPNSFCY	619	ANG95 5	YGTECYFYFNPAAHCYSNE
615	ANG94 9	LRDLLECYWYPNPPYCK	620	ANG95 6	HWYFCNPNPPQCHLKW

Таблица 11
Связывающие ФРЭС домены MRD

SE	Иденти	Пептидная	657	VGf36	TCWKAAPWWLCD
Q	фикации	последовательность	658	VGf37	ACWKAPWWLCD
ID:	онный		659	VGf38	TCWKATPWWLCD
	номер		660	VGf39	TCWKAAPWWLCA
629	VGf1	WCWVPGPIQCY	661	VGf40	ACWKAAPWWLCA
630	VGf2	CMWEMPWWFCQ	662	VGf47	WCAGFPNYPYCY
631	VGf3	TCTWVMPWWFCE	663	VGf48	WCNGFPNYPYCS
632	VGf4	ICLWQMPWWFCE	664	VGf49	WCNGFPNYPYCY
633	VGf6	GDWEWVWDWCF	665	VGf53	WCNGFPNYPYCA
634	VGf8	ECRWVMPWWFCE	666	VGf57	GCVKEVPWWLCI
635	VGf9	ACWKAMPWWFCT	667	VGf59	GCVKQVPWWLCV
636	VGf10	FCMVQVPWWLCK	668	VGf60	GCVTQVPWWLCI
637	VGf11	FYQWFEEQLM	669	VGf62	ACVKEVPWWLCI
638	VGf13	MCWLVPGPMICH	670	VGf63	GCVKQVPWWLCI
639	VGf14	FCMYKPLMFLCP	671	VGf65	ACVAEVPWWLCI
640	VGf15	HCWWLYTWDPCI	672	VGf67	GCVKAAPWWLCV
641	VGf16	HCYVYVPWWLCP	673	VGf69	GCVKEVPWWLCV
642	VGf17	MCWTPVPWWLCL	674	VGf70	GCVKPAPWWLCI
643	VGf18	TCWKPTPWWLCD	675	VGf71	GCVTEVPWWLCI
644	VGf19	SCWFKIPWWLCP	676	VGf72	GCVAQVPWWLCI
645	VGf20	YCQPMWWNMACW	677	VGf76	ACVKEAPWWLCI
646	VGf21	YCFWIPPEWYCV	678	VGf82	GCVAEVPWWLCI
647	VGf23	GCWEWRPHWLCV	679	VGf83	ACVKQVPWWLCI
648	VGf24	ECTWTMPWWFC	680	VGf85	GCVKPAPWWLCV
649	VGf25	TCWKAPWWLCA	681	VGf95	GCVAEVPWWLCT
650	VGf27	TCWKPTPWWLCA	682	VGf99	GGVKQVASWLGT
651	VGf29	KCNFNPWKAACG	683	VGf10	GAVTEAAWWLAI
652	VGf30	TCWKAPWWLCD	0		
653	VGf31	TSWKAAAAGLCA	684	VGf10	GGVEAAAWWVGI
654	VGf32	ACWKATPWWLCD	1		
655	VGf34	TCWKATPWWLCA	685	VGf10	GCVKQVPWGLCI
656	VGf35	ACWKAAPWWLCD	4		
687	VGf13	WCAGFPPTSAGY	686	VGf10	VEPNCDIHVMWEWECFER
1			7		L
688	VGf14	TAWEEAAASWLCA			
0					
689	VGf14	TCGKAAAALAA			
6					
690	VGf15	TGWKPTAWGVGD			
2					
691	VGf15	ASWKAPWWLCA			
6					
692	VGf16	TSGKATPGGACD			
2					

Таблица 12

Связывающие рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (pIGF1) домены MRD

SE	Иденти	Пептидная	723	IGF48	LCLEFEELCF
Q	фикации	последовательность	724	IGF49	LCYEFEEELCF
ID:	онный		725	IGF50	LCMEFQELCF
	номер		726	IGF51	LCHEFEELCF
698	IGF3	DSGFYMGLHK	727	IGF52	LCYEFHELCF
699	IGF10	MDQFHWALLG	728	IGF53	LCDEFQELCF
700	IGF21	LCQEFHELCF	729	IGF54	WCQIQAFHCRGQAGQGG
701	IGF22	LCDEFVELCF			GSAGGGSSCNILQLMCS
702	IGF23	LCCEFIHELCF	730	IGF55	FECVLWNFVCK
703	IGF24	LCDEFKELCF	731	IGF56	LCAEFPVLCF
704	IGF25	LCAEFPVLCF	732	IGF57	LCTEFKELCF
705	IGF27	ICHIFWQTCNGQAGQGGG	733	IGF59	LCQEFNELCF
		SGGSKCDILEMMCN	734	IGF60	AMTLDEWIRMRGQAGGS
706	IGF28	LCMEFPVLCF			WVDPAFWGDF
707	IGF29	LCMEFKELCF	735	IGF61	FYGWFEELQIL
708	IGF30	LCCEFPVLCF	736	IGF64	FYEQLEKLVI
709	IGF31	LCQEFIELCF	737	IGF66	FYEWFEELQIL
710	IGF32	LCLEFHELCF	738	IGF67	FYEWFEAQIM
711	IGF33	LCQEFSELCF	739	IGF68	FYDWFDMMHVK
712	IGF34	LCCEFAELCF	740	IGF69	SFYDMIELLIGQAGQGGGS
713	IGF35	LCFEFVELCF			GGGGGGSTIHFAQEEHP
714	IGF36	LCSEFQVLCF	741	IGF72	FYEWFEAQVM
715	IGF38	LCLEFVELCF	742	IGF73	FYDWFAEQVI
716	IGF39	LCWEFPVLCF	743	IGF74	FYEWFEQVNI
717	IGF40	LCCEFIELCF	744	IGF75	FYEWFEQVNI
718	IGF42	WCEISTTFCNGQAGQGGG	745	IGF76	QFYEWFEAQIT
		GGGQCQLLHMFCH	746	IGF77	FYEWFLQMD
719	IGF43	LCMEFEQLCF	747	IGF78	VHWEQYQWVY
720	IGF44	LCLEFRELCF	748	IGF79	FYETLFELAY
721	IGF45	LCQEFAELCF	749	IGF82	FYEWFEAALI
722	IGF46	LCQEFKELCF	750	IGF83	FYDWFDMMQVQ
			751	IGF84	FYEWFEQVIT
			752	IGF85	EFYYWFFDQY
			753	IGF91	FYEWFDMMQVK

754	IGF92	ADFYQWFQNQV	788	IGF284	EHPLCEEFKELCFGTN
755	IGF93	SFYAWFDEQV	789	IGF285	DWRLCQEFTELCFMDG
756	IGF95	EVWEGYDWLY	790	IGF286	YLSLCAEFTELCFHTE
757	IGF196	SHPLCTEFIELCFGFE	791	IGF287	PPLLCFEFPELCFGYE
758	IGF253	VPFLCLEFSELCFDTP	792	IGF288	DHKLCNEFPELCFHVD
759	IGF254	ADLLCAEFTELCFDVI	793	IGF289	AHALCLEFLELCFEER
760	IGF255	AHPLCLEFSELCFEAV	794	IGF290	IPFLCYEFQELCFGTL
761	IGF256	PHPLCQEFEEELCFETV	795	IGF291	AELLCREFTELCFLRD
762	IGF257	ASQLCGEFPELCFDKV	796	IGF292	APGLCIEFRELCFDEK
763	IGF258	IPLLCFEFVELCFDLT	797	IGF293	YYALCAEFQELCFDEH
764	IGF259	DDALCKEFPELCFQNV	798	IGF294	VPLLCFEFPELCFGYQ
765	IGF260	IPYLCLEFPVLCFQDT	799	IGF295	VPSLCIEFSELCFDSP
766	IGF261	PHILCLEFAELCFDHL	800	IGF296	DYALCLEFRELCFGMN
767	IGF263	VPALCLEFKELCFHDR	801	IGF297	AHRLCQEFVELCFGET
768	IGF264	TPALCLEFWELCFDEA	802	IGF298	PHFLCMEFPVLCFNDS
769	IGF265	VPPLCMEFTELCFHDP	803	IGF299	IPQLCLEFSELCFGMT
770	IGF266	AHPLCVEFSELCFNED	804	IGF300	RTDLCMEFYELCFHSD
771	IGF267	IPMLCWEFTELCFDLN	805	IGF301	KPPLCEEFHLELCFDLT
772	IGF268	VPQLCLEFQELCFGEH	806	IGF303	PHKLCLEFRELCFDEL
773	IGF269	VPSLCLEFPELCFNEA	807	IGF304	LHFLCVEFVELCFDEA
774	IGF270	PHPLCLEFIELCFGTH	808	IGF305	VPRLCYEFPELCFHKQ
775	IGF271	IPFLCLEFEELCFHLD	809	IGF306	PHPLCLEFEELCFTER
776	IGF272	EHPLCLEFPELCFSHP	810	IGF307	AARLCSEFPELCFHAS
777	IGF273	PHYLCLEFSELCFDER	811	IGF308	RHSLCIEFPELCFDEY
778	IGF274	TPFLCLEFHLELCFGEH	812	IGF309	AGRLCAEFHELFCGTN
779	IGF275	PQLLCLEFAELCFWDI	813	IGF310	ASRLCMEFPELCFDRK
780	IGF276	PHALCREFHELCFEKS	814	IGF311	HPALCVEFVELCFGHE
781	IGF277	RLPLCVEFSELCFDLR	815	IGF312	IPPLCLEFQELCFGWD
782	IGF278	VPALCWEFPELCFHYQ	816	IGF313	DDALCAEFNELCFEVT
783	IGF279	TPSLCLEFSELCFADG	817	IGF314	APPLCIEFEELCFGFL
784	IGF280	VHWLCAEFEELCFDQT	818	IGF315	SHPLCLEFHLELCFTDA
785	IGF281	LHFLCLEFQELCFDSN	819	IGF316	IHPLCLEFTELCFHEV
786	IGF282	VPPLCLEFPELCFDTS	820	IGF317	QEPLCVEFRELCFNED
787	IGF283	DHWLCIEFSELCFGKS	821	IGF318	IPDLCREFEELCFGSK

822	IGF319	IHPLCKEFPELCFDVD	856	IGF355	VPYLCLEFAELCFQVD
823	IGF320	GPLLCAEFVELCFGDD	857	IGF356	VPPLCVEFSELCFDAP
824	IGF321	YPPLCLEFPELCFWNH	858	IGF357	MELLCFEFSELCFGSH
825	IGF322	SHNLCLEFVELCFGDV	859	IGF358	TVALCKEFPELCFDIV
826	IGF323	PPLLCLEFHELCFHIE	860	IGF359	DPYLCLEFEELCFRFV
827	IGF324	AHVLCLEFHELCFDMG	861	IGF360	TPALCLEFAELCFEDS
828	IGF325	RPLLCYEFSELCFDIT	862	IGF361	RHPLCVEFPELCFVDY
829	IGF326	HPRLCLEFSELCFDEM	863	IGF362	VHPLCIEFPALCFDTR
830	IGF327	IPALCLEFSELCFSTS	864	IGF363	YLALCYEFRELCFGDQ
831	IGF328	APSLCLEFIELCFDNM	865	IGF364	APLLCLEFPELCFEDI
832	IGF329	PHPLCREFPVLCFDDT	866	IGF365	VHYLCLEFQELCFDEL
833	IGF330	VIPLCLEFAELCFVNY	867	IGF366	RPSLCLEFRELCFDTL
834	IGF331	VPSLCMEFPELCFSTE	868	IGF367	APSLCWEFKELCFDESE
835	IGF332	VPLLCLEFAELCFHVE	869	IGF369	AHALCLEFSELCFDVT
836	IGF334	AMRLCNEFHELCFGVV	870	IGF370	TQYLCIEFAELCFDTI
837	IGF335	EERLCKEFPELCFMMT	871	IGF371	AGALCREFAELCFHNH
838	IGF336	TPSLCREFTELCFDSD	872	IGF372	TPPLCFEFPELCFHLS
839	IGF337	VHPLCMEFTELCFHLR	873	IGF373	SERLCLEFAELCFGHG
840	IGF338	AGALCKEFPILCFME	874	IGF374	AHWLCLEFPELCFDKL
841	IGF339	EHPLCREFSELCFGMG	875	IGF375	DLHLCREFSELCFSSP
842	IGF340	SSSLCLEFSELCFHDD	876	IGF376	TPSLCLEFPELCFHGT
843	IGF341	ALRLCNEFPELCFGGT	877	IGF377	APSLCLEFRELCFEDY
844	IGF343	IPLLCLEFPVLCFENE	878	IGF378	VPSLCLEFADLCFHDI
845	IGF344	APLLCLEFPELCFGWD	879	IGF379	MPALCLEFRELCFEDP
846	IGF345	PALLCQEFELCFDMP	880	IGF380	YMRLCYEFSELCFHAS
847	IGF346	YLHLCREFTELCFDEG	881	IGF381	APSLCTEFRELCFDII
848	IGF347	AHWLCLEFKELCFGND	882	IGF382	VPPLCLEFAELCFYAD
849	IGF348	VPSLCFEFEELCFDWS	883	IGF384	TPSLCVEFRELCFDDL
850	IGF349	VPSLCLEFQELCFSTE	884	IGF385	QEALCIEFHELCFEY
851	IGF350	PHPLCLEFPELCFGAE	885	IGF386	ADRLCREFSELCFDVV
852	IGF351	DSRLCAEFPELCFEDV	886	IGF387	AHPLCLEFPVLCFDDE
853	IGF352	AATLCLEFSELCFDMS	887	IGF388	RPVLCIEFPELCFNET
854	IGF353	IPHLCKEFPELCFEQR	888	IGF389	DVKLCQEFPELCFESY
855	IGF354	SYLLCREFSELCFDKT	889	IGF390	VPALCFEFAELCFHIE

890	IGF391	AYALCHEFQELCFETT	924	IGF429	VHQLCMEFEELCFGGA
891	IGF392	AALLCHEFTELCFLEA	925	IGF430	PHALCLEFHLCFDSN
892	IGF393	QHLLCIEFNELCFNDV	926	IGF431	YRALCFEFAELCFDEN
893	IGF394	IPPLCLEFWELCFDAP	927	IGF485	EFYQGLERLV
894	IGF395	AHRLCMEFAELCFGNA	928	IGF498	YFYWFQEMVM
895	IGF396	RPSLCQEFVELCFEEA	929	IGF500	FYQWFEKQLM
896	IGF397	PHRLCIEFPVELCFDVV	930	IGF503	QEFYNWFALQI
897	IGF398	AQALCLEFMELCFDVR	931	IGF504	ECDFYCGIYTL
898	IGF399	ADALCAEFKELCFNIK	932	IGF507	LCREFQELCF
899	IGF400	GHKLCTEFIELCFDVN	933	IGF511	GFYEFWEMQL
900	IGF401	DEQLCLEFVELCFEQT	934	IGF512	FYEWFAQALT
901	IGF402	VYALCREFSELCFYGN	935	IGF514	GFYEFWEMQM
902	IGF404	AGALCAEFPELFCGGT	936	IGF515	YLSRDDMCYEFPELFCF
903	IGF405	PPSLCLEFPVELCFHRS	937	IGF516	KTSQDMLCWEFEELCF
904	IGF406	IPALCIEFSELCFWPS	938	IGF517	QTTPHILCLEFPVELCF
905	IGF407	VQPLCLEFSELCFDSA	939	IGF518	LTSWELLCFEFEELCF
906	IGF408	EHILCQEFSELCFNRD	940	IGF519	LVSPEDLCQEFVELCF
907	IGF409	VPPLCLEFTELCFIID	941	IGF520	WYVDPPLCFEPELFCF
908	IGF410	IPPLCLEFWELCFDER	942	IGF521	LCAEFAELCFEDTVRY
909	IGF411	PHPLCREFPDLCFDHS	943	IGF522	PGLEIPQLCKEFPELFCFTM DDDF
910	IGF412	PHWLCEEFEELCFEAI	944	IGF523	LCAEFRELCFHLPAQA
911	IGF413	DRLLCSEFYELCFDDN	945	IGF524	MRVESLQLCKEFPELFCFS HGWT
912	IGF414	PAALCLEFSELCFSTQ	946	IGF526	RLTPQDLCFEFSELCF
913	IGF416	YSSLCLEFSELCFDQM	947	IGF527	LSSYDVLCEFESELCF
914	IGF417	RPALCGEFKELCFDGA	948	IGF532	GPMEVHDLCKEFSELCF
915	IGF419	YNALCNEFIELCFHVN	949	IGF533	LRPESIALCKEFPELCFEG WKSA
916	IGF420	PHWLCLFAELCFGSG	950	IGF534	QSLDIPGLCKEFPELCFEM TGMR
917	IGF421	APPLCLEFRELCFGEQ	951	IGF535	LCSEFIELCFDQVPLR
918	IGF423	IPQLCLEFTDLCFEDT	952	IGF536	TSSALKLCQEFPELCF
919	IGF424	VPHLCIEFAELCFEGT	953	IGF537	LSSYMLLCMEFSELCF
920	IGF425	RMDLCREFTELCFSTDS			
921	IGF426	AHQLCIEFAELCFNDG			
922	IGF427	PPLLCLEFPVLCFSDP			
923	IGF428	PHALCLEFSELCFWSL			

954	IGF538	YVIPHPLCLEFSELCF	981	IGF567	TLSPHPLCVEFPELFCF
955	IGF539	DPSVPALCHEFPELFCF	982	IGF568	SEWYHPLCVEFSELFCF
956	IGF540	QGWTHPLCLEFQELCF	983	IGF569	SAGEHWLCVEFQELCF
957	IGF541	FALVPSLCLEFNELCF	984	IGF570	LSPAELLCLDFPELFCF
958	IGF542	MSSNSIKLCKEFPELFCFHH GKD	985	IGF571	LTPAERLCDEFVLCF
959	IGF543	LCLEFRELCFDLSEPH	986	IGF572	LCKEFPELFCFDERDKK
960	IGF544	MRLESLELCKEFPELFCFST DLTL	987	IGF573	LTSADLLCSEFRELFCF
961	IGF545	TMLEIPQLCKEFPELFCFHD TTVW	988	IGF574	RITPNDLCQEFQELCF
962	IGF546	LCQEFKELCFEAEFQA	989	IGF575	FAPPHPLCIEFQELCF
963	IGF547	KVTPFMLCQEFPELFCF	990	IGF577	VGKEVFRLCKEFPELFCFYP AISQ
964	IGF548	APGEHWLCLEFQELCF	991	IGF578	LRFESPQLCKEFPELCCFES NGW
965	IGF549	VFQMHPLCLEFPELFCF	992	IGF579	YRAERPELCKEFPELCCFFE NDWW
966	IGF551	YEPHSLCLEFVELCF	993	IGF580	LCREFIELCFDIETEV
967	IGF552	PPIMHPLCLEFAELCF	994	IGF581	RTVVPPLCLEFPELFCF
968	IGF553	LCAEFIELCFDLEPGI	995	IGF582	LYTPQSMCAEFTELCF
969	IGF554	LSPEFPDLCLYFGLDC	996	IGF583	GLVQHNLCLEFVELCF
970	IGF555	GSLSVPKLCKEFPELFCFDK KMSG	997	IGF584	IDRPPDLCKEFPELFCF
971	IGF556	QRFEPDDLCKEFPELFCFNL NMNV	998	IGF585	VFLDAPELCKEFSELFCFGY SDSL
972	IGF557	LCLEFAELCFGWDDNS	999	IGF586	RFSESPPLCKEFPELFCFWSP PPF
973	IGF559	RIYPSELCLEFAELCF	100	IGF589	RDFTYDTDWEGYSWLY
974	IGF560	QSYEHWLCQEFHELFCF	0		
975	IGF561	SSPPHWLCLEFEELCF	100	IGF592	IPGLCLEFPELFCFHQW
976	IGF562	RMSEMDLCAEFFELCF	1		
977	IGF563	LCAEFHELCFDISNQE	100	IGF596	EPWEGYSWLY
978	IGF564	LCFEFAELCFDTEFYN	2		
979	IGF565	PRLCKEFPELCFEVPVIGN EEHYSL	100	IGF600	PLWEGYSWLYSQEAGN
980	IGF566	QGSKVLELCKEFPELFCFDR ANRL	3		
			100	IGF602	FASGEYPPWEGYRWLY
			4		

100 5	IGF603	WGDDHWEGYDWLYAQT	102 2	IGF127 1	FYNTCQFVGMEFYQCLD WL
100 6	IGF604	RDEAEWEGYNWLYSQM	102 3	IGF127 2	RDPVCETKDVFYQMLCTV AF
100 7	IGF605	DTWEGYLWLYAQTADA	102 4	IGF127 3	RSLVCSEEPFYALCRLT H
100 8	IGF607	YTRSLGDPWEGYSWLY	102 5	IGF127 5	SVLGCDDVGFYQCLEFL
100 9	IGF611	SAWEGYAWFDLQVESG	102 6	IGF127 6	LEHLCQTRDGFYELMCTL AL
101 0	IGF612	YSIQDHGAWPGYDWLY	102 7	IGF127 7	AARWCDMQQHSFYECLQ VL
101 1	IGF613	QWGHKSEQWEGYSWLY	102 8	IGF127 8	NALGCQEEWETLDQCLM RL
101 2	IGF614	QQPNTWEGYSWLYSQV	102 9	IGF127 9	AVPKCPGWDFYTALECLS RT
101 3	IGF616	DLWEGYLWFDSQVLGD	103 0	IGF128 0	EPRLCHNYPDFYQCMSFL
101 4	IGF617	IPLLCLEFPVLCFENE	103 1	IGF128 1	ASQTCIGMDFYSGLECLL GW
101 5	IGF618	SYDYSQGEWEGYQWLY	103 2	IGF128 2	WVEECHNLHWDLKHCLM HQ
101 6	IGF619	HDSALMAEWEGYNWLY	103 3	IGF128 3	SVPSCIDYYGDWFLCLAA P
101 7	IGF623	QPWEGYKWLYEAA	103 4	IGF128 4	NNTLCRGVPTFEFCVFIL
101 8	IGF625	PAASAWEGYKWLYDQV	103 5	IGF128 5	SNGSCHIVDFYGWFCQQT SA
101 9	IGF630	LSTDWSGDWEGYAWLY	103 6	IGF128 6	LTEPCSQHSMFYSMLEL AF
102 0	IGF633	LLASEWEGYEWLYGQI	103 7	IGF128 7	RDRVCHNKTFHCLFSIFP DG
102 1	IGF127 0	ALPECQDLMFYECLFTL	103 8	IGF129 0	YGLGCSQMDFYQCLDML

103 9	IGF129 1	DVSHCHIMFWDFQQCLEY L	105 6	IGF134 8	PSYHCSNMDYTFYECLMY L
104 0	IGF129 2	NPATCYQKSYQFEQCLMY L	105 7	IGF134 9	EQSYCSQNDMFYDWFCALVS
104 1	IGF132 8	VDVLCHHVDFYECMDRL	105 8	IGF135 4	GEEVCWVQEPFYSTLCILAF
104 2	IGF132 9	WLSQCEAKEIDFYMCCLAG QAG	105 9	IGF135 5	NPFWC SWGHQFDNECDSTMV
104 3	IGF133 0	GPKECIGVPNFDLCMAML	106 0	IGF135 6	WASTCQQTIFYSMNRCLSQW
104 4	IGF133 1	LEDWCLHLDFYQCLEAV	106 1	IGF136 0	LMELCAMDEDYYLWFCRAVE
104 5	IGF133 2	TMPTCEKLNIFYECMNLL	106 2	IGF136 4	SAVQCDLRLMCWQLRGPSRP
104 6	IGF133 3	SLSICTYADIFYECMDLL	106 3	IGF136 5	PSEICITEGLGFYQCLLKL
104 7	IGF133 4	YIRECHELQNFTEGIHCLVTR	106 4	IGF136 6	WVDKCHQEMMEFHECLKYV
104 8	IGF133 5	TFKDCAHIPGIDFCLWRL	106 5	IGF137 0	ARCECWESQFYWDLCSLAL
104 9	IGF133 6	SWDPCFESDEFHMKLCVLMMD	106 6	IGF137 1	CTATCLEDQGFYWNMCKLVF
105 0	IGF133 7	LLSECYDKDFYECLGLL	106 7	IGF137 3	AYDCRKHHMNFYECLTYL
105 1	IGF133 8	YQDMCEDMSFYECLEVL	106 8	IGF137 6	VGQMCSMGLELDRMKCNPCY
105 2	IGF133 9	AAANCHWPDEALQELCRYFA	106 9	IGF137 8	LVDICQRQELDFYSLRSVL
105 3	IGF134 0	TGICENPDEFYRQLCLLVE	107 0	IGF137 9	TGSDCYFYKHLYSLCVEVE
105 4	IGF134 1	WEHHCRRSHLDFYGCLSSI	107 1	IGF138 0	ESGDCPWLGHVSFEELMWL
105 5	IGF134 7	AAGSPLDDCYGYTGFYQGMCLLEL	107 2	IGF138 3	LHSVCFEAPEWQQCLMQR

107 3	IGF138 6	PGVSAHALCYEFPVLCFY DVG	109 0	IGF143 2	AYVCSNLNHC PALDFNQG MQCLQAYG
107 4	IGF138 7	AGVSADALCYEFPVLCFY DVG	109 1	IGF143 7	VTEARTNDCNTTTFYHWF DCQLGTG
107 5	IGF139 0	DGESYFYVCLEHLLNVP YHCVMTNG	109 2	IGF144 3	NLMHCHGLDFYQGMQCL QAY
107 6	IGF139 2	SYGTRWNPSFESNQFHM KLCVLMDGK	109 3	IGF144 5	EAECRYPD TDLMWLCTYF SG
107 7	IGF139 5	PGVSADALCYEFPVLCFY DV	109 4	IGF144 6	DALCYEFPVLCFYDVG
107 8	IGF139 6	HALCYEFPVLCFYDV	109 5	IGF189 5	MAVGCTWVESCHWA
107 9	IGF140 1	TSRRCEEYQDPLKEVC RYFL	109 6	IGF189 6	ALPECQDLMFYECLFT
108 0	IGF140 5	AHALCYEFPVLCFYDVG	109 7	IGF189 7	FYNTCQFVGMEFYQCL DW
108 1	IGF140 6	AHALCYEFPVLCFYDV	109 8	IGF189 9	SVLGCD DVGFYQCLEF
108 2	IGF140 8	DFYICLEHLLNVPGYH CVMTNG	109 9	IGF190 0	AARWCDMQQHSFYEC LQV
108 3	IGF140 9	DALCYEFPVLCFYDV	110 0	IGF190 4	EPRLCHNYPDFYQC MSF
108 4	IGF141 1	NLMECHALDFNQGMQCL QAY	110 1	IGF190 5	ASQTCIGMDFYSGLE CLLG
108 5	IGF141 3	NLMECHALDFYQGMQCL QPYPHP	110 2	IGF190 6	SNGSCHIVDFYGFQ CQTS
108 6	IGF141 4	DLMECHGLDFYKGM ECLQAYG	110 3	IGF198 7	ALAE CIFEPTFEDCM WIL
108 7	IGF142 1	AHALCYEFPVLCFYDV	110 4	IGF198 8	VDMQCQVHG MTFY ECLMLRL
108 8	IGF142 2	NLMECHALDFNQGMQ CVQAY	110 5	IGF198 9	TLPECLYAPTFEIC VEYL
108 9	IGF143 0	AHALCYEFPVLCFYDVG	110 6	IGF199 0	WEERCVDSDFYTQ LCMLAW

110 7	IGF199 1	GTVLCPEDMDFYECMTFI	112 4	IGF201 1	WDRWCVTEELPEQLCFLD G
110 8	IGF199 2	REELCSVSPFDYHCRLFS	112 5	IGF201 2	MSYTCEDFDLPCELCLSLH
110 9	IGF199 3	LSYTCQHFDLPWELCLSL H	112 6	IGF201 3	GLDSCQQAYFYQFFCEVF R
111 0	IGF199 4	VISECEGLTFYQCMASL	112 7	IGF201 4	VDMQCQVHGMYFYQCLM RL
111 1	IGF199 5	WEEWCVDSDFYTQLCML AW	112 8	IGF201 5	EDLGCMYLTIFYECMIWL
111 2	IGF199 6	REPLCIQDDPIMYLHCYFS V	112 9	IGF201 6	VSALCEDLEFYECILAL
111 3	IGF199 7	MSYTCEDFDLPWELCLSL H	113 0	IGF201 7	DVRECEGLTFYECMAAL
111 4	IGF199 8	DDLDCCKCLTFYECMAAL	113 1	IGF201 9	TAWCHAAGLTFTQCLLW L
111 5	IGF199 9	WSNVCQARNMAFQECLE YL	113 2	IGF202 0	CEEWCVDSDFYTQLCML AW
111 6	IGF200 0	EDLGCLYLTFNQCMMWL	113 3	IGF202 1	GISECEGLTFYECMAAL
111 7	IGF200 1	FAHECSFHKLNFYQCLSFE	113 4	IGF202 2	EYKVCTSNDFTHWGICAL LK
111 8	IGF200 2	LMDFCYVYPNICGCSN	113 5	IGF202 3	EDLGCMYLTIFDECMMWL
111 9	IGF200 4	SRFVCQHDWGFYECLSML	113 6	IGF202 5	WKEWCVDSDFYTQLCML AW
112 0	IGF200 5	ASHICHLIPTIEQCLFSL	113 7	IGF202 6	FGQLCDQQVETMIECFER L
112 1	IGF200 6	VISECEGLTFYECMAAL	113 8	IGF202 7	DLFDCQGLTFYQCLAAL
112 2	IGF200 9	VDMLCQVHGMYFYECML LL	113 9	IGF202 9	LQQICDPEHVTFYQCMTL L
112 3	IGF201 0	WEEWCVDSDFYTQLCLL AW	114 0	IGF203 0	QSLTCNDFTDWQSLCRC
114 1	IGF203 1	PREACHDYDVVLHQLCM YFV	114 6	IGF203 8	RCLANSY HCSGQAGQGS ATGGSSRITP SDLCKEFPEL CF
114 2	IGF203 3	EDLGCVCLTFYECMIAL	114 7	IGF204 0	GSYCAPDWHN CFGQAGQGSR ITPSDLCKEF PELCF
114 3	IGF203 4	IPGLCLE FPELCFHQW	114 8	IGF204 1	IPLLCLE FPVLCFENE
114 4	IGF203 5	LCWEGYKWFYDQIKPD	114 9	IGF204 2	SLEHLCQTRDGFYELMCT LA L
114 5	IGF203 6	GFHHAYY KYRGQAGQGS ATGGSSRITP SDLCKEFPEL CF	115 0	IGF204 3	SKDPVCKTKHQFYQMLCT LA F

Таблица 13
Связывающие ИЛ-6 домены MRD

SE	Иденти	Пептидная	117	ILB89	HHHKMWPQNKSDSHAY
Q	фикации	последовательность	1		TMM
ID:	онный		117	ILB91	WPSWTYWYHF
	номер		117	ILB92	PWTYNWPWFM
115	ILB59	QRMEKFMHGS	117	ILB94	IWHVFYMQAGQAG
8			117	ILB96	RYMHMVWQHI
115	ILB60	MLDWVGRPPF	117	ILB98	PMTMWWFWKQAG
9			117	ILB99	HSFVYMHWFL
116	ILB65	YFWHSLKTMM	117	ILB100	WPMITWLGWYGQAG
0			117	ILB101	YMFHWPLFWLGQAG
116	ILB69	DEIPLWEFQF	118	ILB102	MQGWLWAKWW
1			118	ILB104	IYAWWKWHWFGQAG
116	ILB71	FQESWSTWVEGQAG	118	ILB105	TMQPHHIYGYGQAG
2			118	ILB106	SLFMPQHNVHGQAG
116	ILB73	VWTAFIQMNS	118	ILB107	YWPSLEWDWS
3			118	ILB114	GCWWVATECWGQAG
116	ILB75	ECTHPVFVRPCWGQAG	118	ILB122	GCTWLIDICTGQAG
4			118	ILB128	HQLQPYIQDL
116	ILB76	MWMYGWWWAG			
5					
116	ILB77	FCIYYHNHMIWGQACQA GRCGSYCWWQDYAYKV GQAG			
6					
116	ILB82	ICVASICGLVC			
7					
116	ILB84	RWHYWHQHWWGQAG			
8					
116	ILB87	VCKWKQEYCKGQAG			
9					
117	ILB88	WYHWMKEHMGWQAG			
0					

118 8	ILB130	WCLAGHVYCQGQAG	120 5	ILB234	FTIGGPICGWDPLLMRV
118 9	ILB135	GVLKSGFRSLRCMARP	120 6	ILB236	LLCSENWCRWDPLMMSC R
119 0	ILB139	PCPGFPPMLCMGQAG	120 7	ILB237	FSQMCOWDPLMMCRSV N
119 1	ILB140	PCMRDWWMCQGQAG	120 8	ILB238	VGSDCMWDPLMMNCRY S
119 2	ILB142	KCTHLPFQRNCSGQAG	120 9	ILB239	LSLLCHWDPLIMRCSYDS
119 3	ILB143	FCHHWRPVCLGQAG	121 0	ILB240	YIPPCOWDPLMDCAQIQ
119 4	ILB146	ACMLKTHRCKGPGR	121 1	ILB241	MMMECHWDPLLMRCQN PK
119 5	ILB148	RCSIWKVYAMCM	121 2	ILB242	LPSSCYWDPLLMESHRN
119 6	ILB151	ECLWTSLECEGQAG	121 3	ILB243	LVPPLFACWDPLLMNCS
119 7	ILB158	VCIPMATMCIGQAG	121 4	ILB244	WSYFNRSACWDPLLMKC A
119 8	ILB226	SVSWCFWDPLVMQCKDH T	121 5	ILB245	SSFTVVSCMWDPLLMSCM
119 9	ILB228	VHFNCAWDPLMMRCNYD L	121 6	ILB246	LLTKYRTCHWDPLMLCR
120 0	ILB229	RMSTCLWDPLLMNCKSL W	121 7	ILB247	MVFWDEFCSWDPLLMAC R
120 1	ILB230	TSEPCFWDPLMTCDYGS	121 8	ILB248	NQLSSIMCHWDPLMTQC
120 2	ILB231	QNVNCLWDPLRMNCVEY K	121 9	ILB249	TFTSCSWDPLMDCTDFV
120 3	ILB232	SYIGYTYCPWDPLTMRCV	122 0	ILB250	MVFYCYWDPLMLCHDQ T
120 4	ILB233	LRHFVQYCPWDPLMACI	122 1	ILB252	QVSLCFWDPLMMTCSVPF

122 2	ILB253	ISMPCSWDPLLMNCAKWP	123 9	ILB270	TKNVTYECMWDPLL MVC T
122 3	ILB254	FEAWCVWDPLL MNCV TY T	124 0	ILB271	PFYEYTCPCWDPLL MNCL
122 4	ILB255	NRYERFMC FWDPLL MMC S	124 1	ILB272	KDYFHQYCIWDPL TMNC A
122 5	ILB256	VIMNQFFCFWDPLL MRCM	124 2	ILB273	HYTNCVWDPLL MRCYEF A
122 6	ILB257	FSSAYSGCYWDPLL MECI	124 3	ILB274	AVGWCPWDPLL MNCMG RN
122 7	ILB258	WSSGLYG CYWDPLL MLC K	124 4	ILB275	VASVCLWDPLL MQCWSH Y
122 8	ILB259	RSSADWSCLWDPLL MQC M	124 5	ILB276	DGMICLWDPIRMD CYYTE
122 9	ILB260	ITSLERSCMWDPLL MLC S	124 6	ILB277	DFTFCAWDPLL MACNDQF
123 0	ILB261	MHGYCTWDPLL MRCSNY I	124 7	ILB278	DWEECVWDPLL MMCGIS Y
123 1	ILB262	STVGCFWDPLL MDCRSM V	124 8	ILB279	QRNYSEFCHWDPLL MLCQ
123 2	ILB263	WLSTCLWDPLL MQCIESE	124 9	ILB280	ALVNRVECSWDPLL MKCS
123 3	ILB264	SGVSCFWDPLRMICYILP	125 0	ILB281	NLDVTPYCYWDPLRMVC Y
123 4	ILB265	YLSSCLWDPLL MRCTKLM	125 1	ILB282	PRFLIYFCNWDPLL MMCK
123 5	ILB266	APQQCNWDPLL MNCVKY V	125 2	ILB283	YYPITLDCHWDPLL MRCL
123 6	ILB267	SYVTFLSCHWDPLRMQCI	125 3	ILB284	YIEINHPCHWDPLL MDCT
123 7	ILB268	FSSVTSACAWDPLIMRCI	125 4	ILB285	LVDVCSWDPLL MNCRLA N
123 8	ILB269	ALALVASVTGTRYQCRV	125 5	ILB286	FDTFCFWDPLL MDCAAPT

125 6	ILB287	QSNDCAWDPLLMQCLNS L	127 3	ILB305	LDFSFFDCSWDPLLMRCS
125 7	ILB288	MTSHCLWDPLLMVCVNH E	127 4	ILB306	FRMKKVDCCWDPLLMNC R
125 8	ILB289	HFTFCAWDPLLMQCGIDS	127 5	ILB307	NAPVWVECMWDPLLMSC V
125 9	ILB290	KSTALITCIWDPLLMQCR	127 6	ILB308	GYAWCFWDPLLMKCTW QV
126 0	ILB291	YTNNMETCAWDPLLMC Y	127 7	ILB309	DDFLCSWDPLLMDCMVY P
126 1	ILB292	FSGKQMMCAWDPLMMQ CA	127 8	ILB310	FEDSCAWDPLLMACSNPI
126 2	ILB293	LHLGEWDCYWDPLLMIC R	127 9	ILB311	LAGSVSGTLLQQTQRT
126 3	ILB294	WLFNGVDCLWDPLLMDC I	128 0	ILB312	LVSFCAWDPLLMNCMWP M
126 4	ILB295	FHESLLPCFWDPLLMTCQ	128 1	ILB313	LYGECAWDPLLMRCQPY Y
126 5	ILB296	LYMICTWDPLLMDCREDR	128 2	ILB314	GSKRFGICFWDPLLMDCA
126 6	ILB297	LNLLCAWDPLLMSCIETL	128 3	ILB315	YVAVGPSCLWDPLLMC A
126 7	ILB298	WEHGCMWDPLLMQCINR S	128 4	ILB316	GFGSSWFCSWDPLLMQCQ
126 8	ILB299	GSTCCVWDPLLMKCMSP V	128 5	ILB317	SISRAFSCVWDPLLMNCS
126 9	ILB300	GLYNCTWDPLLMRCSESI	128 6	ILB319	MTQSLSFCHWDPLLMYC V
127 0	ILB302	DNWSISSCYWDPLLMNCP	128 7	ILB320	LVPYSWYCVWDPLLMDC V
127 1	ILB303	WFLFPWTCPWDPLLMCI	128 8	ILB321	SDNLYFDCHWDPLLMC R
127 2	ILB304	SVQYETPCYWDPLRMQ Q	128 9	ILB323	LFTMCHWDPLLMDCATV P

129 0	ILB324	FCSWDPMLMDCSTITFDM	130 7	ILB349	DWSTLYFCSWDPLLMLCS
129 1	ILB329	TQMYCWWDPLL MNCTE MS	130 8	ILB350	GQNHCFWDPLMMICLNG H
129 2	ILB330	LTGYCYWDPLL MNCLEQ G	130 9	ILB351	TLLTCVWDPLL MQCRDLE
129 3	ILB331	NHPMCWWDPLMMDCMY FE	131 0	ILB352	YVSPCVWDPLLMLCNES W
129 4	ILB332	PDTLCIWDPLL MQCRWMP	131 1	ILB353	LCFWDPLYMECSTHLYID
129 5	ILB333	VNVSWGCVWDPLL MVC S	131 2	ILB357	LLAWCFWDPLL MDCVWD S
129 6	ILB334	KAVLSNYCYWDPLL MICS	131 3	ILB358	YHYLSVNCHWDPLL MEC T
129 7	ILB335	LGRLVPYCRWDPLSMVCL	131 4	ILB359	FHHFCFWDPLL MGCMNY N
129 8	ILB337	RWKIDVICKVEILQRRCT	131 5	ILB360	FCVWDPLLMLCQWLEDSS
129 9	ILB339	SHIACGWDPLMMMCTQE M	131 6	ILB361	FNTQSTDCWWDPLLMLC A
130 0	ILB340	ICWWDPLL MDCISTVEPY	131 7	ILB362	VQLTCFWDPLMMWCSEQ S
130 1	ILB341	MFLSVVDCFWDPLL MEC V	131 8	ILB365	LRAICIWDPLMMLCGTMG
130 2	ILB342	HCYWDPLLMTCYDSGPW V	131 9	ILB367	ISFPHFICPWDPLL MQCS
130 3	ILB343	IFEYCVWDPLL LRCSLNS	132 0	ILB368	RSFVCNWDPLMMTCTSDL
130 4	ILB344	FVDDCVWDPLMMDCHRY S	132 1	ILB369	PLWSCFWDPLL MDCQWT L
130 5	ILB347	KLALLDDCIWDPLL MSCR	132 2	ILB370	SHSSNMGCYWDPLMMMC H
130 6	ILB348	WTNWCWVLP TMLCMY WI	132 3	ILB371	RVYECYWDPLIMDCTWD L

132 4	ILB377	FSVNYTPCVWDPLLMRCS	134 1	ILB403	WQCYRYRLCMGYPLGILCS
132 5	ILB378	LVALPNSCFWDPLLMTCR	134 2	ILB404	FRFATFFCYWDPLLMSCR
132 6	ILB379	FWVGCPWDPLLМКТСY N	134 3	ILB405	LTFLFYRCWSVESVTPGCI
132 7	ILB380	KLALMSSCLWDPLLMD M	134 4	ILB406	LLLSTYWCSWDPLLMD N
132 8	ILB381	HCYWDPLLMDCKYLILEG	134 5	ILB407	SLWLTVLCPWDPLLMACI
132 9	ILB382	GSIIWWWDPLLMSCADLK	134 6	ILB408	TSGLCVWDPLMMSCASLL
133 0	ILB383	QLFTCHWDPLLMDCTWD S	134 7	ILB409	LIMGCPWDPLLMLCQERR
133 1	ILB387	WLEQCVWDPLLMSCTSY V	134 8	ILB410	SNPICIWDPLLMRЦИWYQ
133 2	ILB388	SSPGIDACWWDPLLMDCA	134 9	ILB412	QSFLMRGCAWDPLLMQCI
133 3	ILB389	LHFVCFWDPLIMDCSPQM	135 0	ILB414	LVVNCPWDPLLMACAVN V
133 4	ILB390	SYAYCYWDPLLMECADP M	135 1	ILB418	STRDCYWDPLLMTСINYI
133 5	ILB393	VWLVFWPCFLDPISICN	135 2	ILB419	SYQVCCWDPLLMTСQRA R
133 6	ILB395	SLLECFWDPLMMNCNGL	135 3	ILB421	YHWQLNGCVWHPLMINC L
133 7	ILB397	SDDWTMECYWDPLLMT I	135 4	ILB423	LCLWDALLMECRIHSFDS
133 8	ILB398	ALMFCFWDPLLMRСNAN V	135 5	ILB425	FCVWDPLLMHCRFTHDR M
133 9	ILB399	NRLMCFWDPLLМVCQSD L	135 6	ILB426	SMTMCGWNPLGMWCHSL G
134 0	ILB402	LMQRPVHCVWDPLLМNC R	135 7	ILB428	TLVSLGLCAWDPLLMSCA

1358	ILB429	SFLFYSSCVWDPLLMQCG	1375	ILB461	QVSYCPWDPLLMQCQLSG
1359	ILB430	TLDNCAWDPLLMRWGW	1376	ILB463	RSIECFWDPLMMECMGYV
1360	ILB431	SSIYCLWDPLLMRCATPL	1377	ILB464	LGMTFYVCPWDPLLMLCI
1361	ILB432	RCPWDPLMMMCIEEMYTD	1378	ILB465	YYYSWPMCYWDPHMLFCL
1362	ILB436	LCSWDPLMMRCVVMDSL	1379	ILB467	PCYWDPLLMRMCLQVDN
1363	ILB437	FFCLWHFCTGDPLKIHCM	1380	ILB469	FFSDCNWDPLLMHCAKCL
1364	ILB439	QLFLTLCNSWDPLLMQCL	1381	ILB470	RPSLVPICYWDPLLMICI
1365	ILB440	SYLGGGLACAWDPLLMQCI	1382	ILB471	NYFNCVWDPLRMDCQYFM
1366	ILB441	GFPECFWDPLLMDCTYWF	1383	ILB473	DWQYYSSKTYGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYS
1367	ILB445	VFPWCYWDPLMMDCAIQN	1384	ILB474	PDWITWQPAWGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P
1368	ILB450	FCVWDPLLMDCSGNTFYF	1385	ILB475	NMYHEHAAGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYS
1369	ILB451	TCAWDPLLMVCRYPAPAF	1386	ILB476	EVNHVEDFPAGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS
1370	ILB452	AALECPWDPLMMSCIKTS	1387	ILB477	WYTHSLQMWGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYS
1371	ILB453	YLPSWLSCSWDPLLMICS	1388	ILB478	GPDVTQYVKFGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS
1372	ILB454	HLSLLMDCCWDPLTMQCT	1389	ILB479	QSPSASHIMGGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS
1373	ILB455	RWPFCCHWDPLLMMCSVS			
1374	ILB457	LPLLRFPDGGKQLWKFCL			

139 0	ILB480	GPVEESAPQYGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL DCAYSP	140 2	ILB493	MCNPMSECHGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
139 1	ILB481	WIMSLSWPMAGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCAYS	140 3	ILB494	VYWYDVKWTWGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP
139 2	ILB482	HVGWHAMNPWGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP	140 4	ILB495	DCEQNQTYCVGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA YSP
139 3	ILB483	VWTAFIQMNSGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	140 5	ILB497	WWPNYTDHPQGSATGG SSFNEDCMWDPLLMDCA YSP
139 4	ILB485	PDWITWQPAWGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	140 6	ILB498	DGSPGYRAYHSQFGQAGQ GSATGGSGSTASSGSGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP
139 5	ILB486	VMWQWEEGHWGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP	140 7	ILB499	WPWFEQEHWGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA YSP
139 6	ILB487	TQEMWFTGINGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	140 8	ILB500	WCRPTDLKLVKGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP
139 7	ILB488	DNWWRIWDKQGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP	140 9	ILB501	DKSGGLVAIQGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP
139 8	ILB489	VTWFMYQDRAGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA YSP	141 0	ILB502	DRWGWQKEPSGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA YSP
139 9	ILB490	LPPCYWTTWGKEQMF D	141 1	ILB503	LAWKQSWIDTGQAGQGS ATGGSGSTASSGSGSFNE DCMWDPLLMDCA YSP
140 0	ILB491	VEPIPYTMMRGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP	141 2	ILB504	VMLEQMPMMRGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
140 1	ILB492	RIVVMEQMIGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL DCAYSP			

141 3	ILB505	ATRMWPMSISGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	142 4	ILB519	YAWHHHVLNTGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P
141 4	ILB506	MYVMKWQNWTGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCAYS P	142 5	ILB520	YCPFMPALCVGQAGQGS TGGSGSTASSGSGSSFNED CMWDPLLMDCAYS
141 5	ILB508	ISDVYQWHSYGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS	142 6	ILB522	RTYSTPYWGWGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P
141 6	ILB509	MVKLWEIYSWGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	142 7	ILB523	EIFWWLLQWEGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
141 7	ILB511	QWGWSMWQEVGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCAYS P	142 8	ILB524	QIDFKYMMWTGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
141 8	ILB512	MWSAVFPYPYQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPGGSFNEDCMW DPLLMDCAYS	142 9	ILB525	QMQLDDEFYQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
141 9	ILB513	AMHNVWMWRAMGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCAYS P	143 0	ILB526	PVQQEWMQWYGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCAYS P
142 0	ILB514	HEDKFIVWMWGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	143 1	ILB527	QAWKLMWFAWGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
142 1	ILB516	QWWWTNPWLGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	143 2	ILB528	MPSTQINQWVGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS
142 2	ILB517	QHQTAFTEMVGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	143 3	ILB529	TEKDPAQDWWGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
142 3	ILB518	QTMWTRWMHDGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCAYS P	143 4	ILB531	EYTNTSWKGHGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP

143 5	ILB532	QMEVAHVVDLGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	144 6	ILB543	MEMVSAAWQEGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P
143 6	ILB533	IKPSSHWWQGGAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	144 7	ILB544	YWWTIDYWPYGGAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
143 7	ILB534	YEEQQVDEFGGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCAYS	144 8	ILB545	YPMYYYQDISGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS
143 8	ILB535	AWWQGQRPYNGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP	144 9	ILB546	IMWAGPIFPNGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS
143 9	ILB536	PPLWMSQMVPQGSATGG SSFNEDCMWDPLLMDCA YSP	145 0	ILB547	IMGMYEGFRTGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS
144 0	ILB537	VEHLSHSYVLGQAGQGSA TGGSSFNEDCMWDPLL DCAYS	145 1	ILB548	IERAYHSTRWGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL DCAYS
144 1	ILB538	DCSPDVHDCHGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	145 2	ILB549	ETELKKPAMQGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS
144 2	ILB539	TYLQLWYFIQGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS	145 3	ILB550	QDWHYPWVYQGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP
144 3	ILB540	GRWWMVQWVEGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP	145 4	ILB551	PLQKWEHIVNGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS
144 4	ILB541	VMEGHQFAQFGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	145 5	ILB552	TDSWCHTLYWALQHCVA QE
144 5	ILB542	WWSPSYAWVMGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP	145 6	ILB553	WQNPWPVRFWGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCAYS
			145 7	ILB554	APGVAMWMFIGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P
			145 8	ILB555	QSNGAHAWVWGQAGQG SATGGSGSTASSFNEDCM

1459	ILB556	PDSSCHTLYWQLHHCARR E	1471	ILB568	DGSHPIVVVTEWFGQAGQ GSFNEDCMWDPLLMDCA YSP
1460	ILB557	KWNQQWTIARGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	1472	ILB569	VYWQAMNQDYGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP
1461	ILB558	ECSCAKSRYANGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	1473	ILB570	PDSWCHTLYWDLLYCVN QE
1462	ILB559	SCQFLEEKDCRGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYS	1474	ILB572	DCAMWFMFKDQGQAGQ GSATGGSSFNEDCMWDPL LMDCAYS
1463	ILB560	VPSLIYHTYYGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYS	1475	ILB573	NNMHPLWPISGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYS
1464	ILB561	SIYISYRQNHGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMWD PLLMDCAYS	1476	ILB574	FWYSWNPQWDGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P
1465	ILB562	TYTHTAWDRGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	1477	ILB576	EGYWRGPHWEGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P
1466	ILB563	LLVEFFKHTYGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS	1478	ILB577	YRMKWDFMLHGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP
1467	ILB564	FQGHWHIKKQGQAGQGS ATGGSGSTASSGSGSFNE DCMWDPLLMDCAYS	1479	ILB578	WWWDQHMLENGQAGQG SATGGSGSTASSFNEDCM WDPLLMDCAYS
1468	ILB565	FHLPIHWHYQGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYS	1480	ILB579	PCHWAQQPCAGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P
1469	ILB566	LIVLQPKNMVGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS	1481	ILB580	FFDFFSFNSGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLLMD CAYS
1470	ILB567	TYSWRDWGMYGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA YSP	1481	ILB581	VWTAFIQMNSGQAGQGS SF

148 3	ILB582	QIQQFSFWVQQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP	149 6	ILB595	VCQDEVYMWCEGQAGQ GSATGGSSFNEDCMWDPL LMDCA YSP
148 4	ILB583	LFIPYMAQIWGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP	149 7	ILB596	ADSWCHTLYWNLRHCEIQ E
148 5	ILB584	MTTMYHIIVLGQAGQGSA TGGSGSTASSFNEDCMWD PLLMDCA YSP	149 8	ILB597	HHQQSMYWLEGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP
148 6	ILB585	GCSMCHMMMVKWHRGQ AGQGSFNEDCMWDPLL MDCA YSP	149 9	ILB598	AEHTFALQYVVGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP
148 7	ILB586	EQHVDWYWVPQGSFNED CMWDPLLMDCA YSP	150 0	ILB599	YTTYNWKPWQQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP
148 8	ILB587	NQTQPKRPTDGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP	150 1	ILB600	ACDTQHHGCMGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCA YSP
148 9	ILB588	ELGGRKSMLIGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP	150 2	ILB601	EVVGVGWFLNGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCA Y SP
149 0	ILB589	EAWRELRWNGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA Y SP	150 3	ILB602	PESWCHTLYWNLQHCLSQ E
149 1	ILB590	YCTDRV DICMGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCA YSP	150 4	ILB603	IDNKYEGMVLGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP
149 2	ILB591	LIVPAPLTWWGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCA YSP	150 5	ILB604	HWMTYQFWIQGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP
149 3	ILB592	WVPDMWMHEWGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCA Y SP	150 6	ILB605	TCELMQAWTHLGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP
149 4	ILB593	YQDSWITGMQGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP	150 7	ILB606	YYPQHIDHIMGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCA YSP
149 5	ILB594	YEEHCRLFPADWICSLQ			

1509	ILB608	HTEFQRLEWPQGSATGGS SFNEDCMWDPLLMDCAYS P	1521	ILB620	SCFGDLQICWGQAGQGS TGGSGSTASSGSGSSFNED CMWDPLLMDCAYS
1510	ILB609	IQWPSMMEIHGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS	1522	ILB621	HCKDMHWA IQFGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCAYS P
1511	ILB610	QTGWGPKYMWGQAGQG SFNEDCMWDPLLMDCAYS P	1523	ILB622	WLFVAEQSQYGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYS
1512	ILB611	QSHIHLEKWLGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAYS	1524	ILB623	ANSWCHTLYWDLMYCV WQE
1513	ILB612	QCWIYPYDGLCNGQAGQ GSATGGSSFNEDCMWDPL LMDCAYS	1525	ILB624	DGSGFYPNKWFHGGQAG QGSATGGSSFNEDCMWD PLLMDCAYS
1514	ILB613	TCTHLVKTVLIGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	1526	ILB625	MVYRWVMQADGQAGQG SATGGSGSTASSGSGSFN EDCMWDPLLMDCAYS
1515	ILB614	PLYTVWKWSGGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCAYS	1527	ILB627	HPMEIKTMMKGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P
1516	ILB615	FNFERWEQKPQGSFNEDC MWDPLLMDCAYS	1528	ILB629	LQAWMWQVNQGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYS
1517	ILB616	YVLQQVEMQEGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	1529	ILB630	GCNYFPTQWECYQAGQ GSFNEDCMWDPLLMDCA YS
1518	ILB617	SMTKYKALYHGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	1530	ILB631	LQAWMWQVNQGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYS PQGSATGGSFN EDCMWDPLLMDCAYS
1519	ILB618	QDNIAQQGWWGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAYS P	1531	ILB632	QFPYESPPSIGQAGQGSFN EDCMWDPLLMDCAYS
1520	ILB619	MDHIWQHGLGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYS			

153 2	ILB633	IYLSWDMPALGQAGQGS TGGSGSTASSFNEDCMWD PLLMDCAISP	154 4	ILB645	QYQSRQTFQIGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAISP QGSFNEDCMWDPLLMDCAISP
153 3	ILB634	QYTEMVALVYGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCAISP	154 5	ILB646	YVAWQQEFQWQAGQGS SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISPGSYVAWQQEF QWQAGQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAISP
153 4	ILB635	PDSWCHTLYWHLQHCLS QE	154 6	ILB647	YYQGFQWQFQIGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP
153 5	ILB636	PAKDPFVMRHGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP	154 7	ILB648	FFYQWSYGWSGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAISP
153 6	ILB637	WQVSSVQLPYGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP	154 8	ILB649	YEEHCALFPTDWICTLH
153 7	ILB638	QQTQTYWGTWQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAISP	154 9	ILB650	WRWHAEDWYQAGQGS SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP
153 8	ILB639	DQLWRQNWMQGQAGQGS SFNEDCMWDPLLMDCAISP	155 0	ILB652	WRWEEFYHYHGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP
153 9	ILB640	QYYNVYWQNQGQAGQGS SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP	155 1	ILB653	MFYEQWVIHGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAISP
154 0	ILB641	QTYSNKPMGPQGSFNEDC MWDPLLMDCAISP	155 2	ILB654	PDWITWQPAWGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISPGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAISP
154 1	ILB642	EEESWYDRRGQAGQGS FNEDCMWDPLLMDCAISP	155 3	ILB655	WPFYEIIMMGQAGQGS TGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISP
154 2	ILB643	AYYWKEWMKMGQAGQGS SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAISPG			
154 3	ILB644	AIAHLDVFPPQGSFNEDC MWDPLLMDCAISP			

155 4	ILB656	RPYYYQWHIWGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	156 2	ILB666	QWSFHWWSHTGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
155 5	ILB657	TGFFWSWSFGGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP	156 3	ILB667	WTFEWWIYTKGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
155 6	ILB659	SKMEQYPWNMGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAISP	156 4	ILB669	ADRFVWNPYGGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAISP
155 7	ILB660	YHWQQQHGYHGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAISP	156 5	ILB670	QRYMMQTMIGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAISP
155 8	ILB661	DWQVYYKTWIGQAGQGS ATGGSGSTASSGSGSSFNE DCMWDPLLMDCAISPQG SATGGSGSTASSGSGSSFN EDCMWDPLLMDCAISP	156 6	ILB671	PWSKATQPGWGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCAISPQGSATGG SGSTASSFNEDCMWDPLL MDCAYSPQGSATGGSGST ASSFNEDCMWDPLLMDC AISP
155 9	ILB662	YRYTTYWWYSGQAGQGS ATGGSGSTASSFNEDCMW DPLLMDCAISP	156 7	ILB672	IWWGYSDHYGQAGQGS ATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSP
156 0	ILB664	QCCMSQVSWYVGQAGQG SATGGSSFNEDCMWDPLL MDCAYSPQGSATGGSSFN EDCMWDPLLMDCAISPQ GSATGGSSFNEDCMWDPL LMDCAISP	156 8	ILB673	IVNFTWNFLSGQAGQGSF NEDCMWDPLLMDCAISP
156 1	ILB665	YYQGFPFQIGQAGQGSA TGGSSFNEDCMWDPLL DCAYSPGGGSYYQGFPF QIGQAGQGSATGGSSFN DCMWDPLLMDCAISP	156 9	ILB675	MQFSWTQHFFGQAGQGS ATGGSGSTASSGSGSSFNE DCMWDPLLMDCAISPGM QFSWTQHFFGQAGQGSAT GGSGSTASSGSGSSFNE DCMWDPLLMDCAISP

157 0	ILB676	LHANSIATNWGQAGQGSATGGSSFNEDCMWDPLLMDCAYSP	158 1	ILB745	VSAECYWDPLMMQCSTD M
157 1	ILB677	PDSWCHTLYWQLHCERQE	158 2	ILB747	FGDTCFWHPFNEDMCESK P
157 2	ILB678	QFPYESPPSIGQAGQGSATGGSSFNEDCMWDPLLMDCAYSP	158 3	ILB748	QWLHCFWDPLMMKCVTV S
157 3	ILB680	YYQGFPWFQIGQAGQGSATGGSSFNEDCMWDPLLMDCAYSPGGGSYYQGFPWFQIGQAGQGSATGGSSFNEDCMWDPLLMDCAYSP	158 4	ILB749	TPHPCHWDPMIMYCMLE M
157 4	ILB681	YYQGFPWFQIGQAGQGSATGGSSFNEDCMWDPLLMDCAYSPGGGSYYQGFPWFQIGQAGQGSATGGSSFNEDCMWDPLLMDCAYSP	158 5	ILB750	HEEDCWWDPLIMQCFNRT
157 5	ILB739	GEAWCWDPIRMDVRVCS VFI	158 6	ILB751	HTANCPWDPLIMNCSFQS
157 6	ILB740	GPYSCPWDPMKMECAYSP	158 7	ILB752	YTKHCQRLPTYKICNLFM
157 7	ILB741	EYSSCNWDPLLMQCQRV V	158 8	ILB755	ADSWCHTLYWQLQHCLS QE
157 8	ILB742	FHSTCFWDPLLMRCVSAP	158 9	ILB756	HSRWCYWEPIRMIECMCM GDK
157 9	ILB743	SVSPCIWDPLMMCGNYS	159 0	ILB757	PGVACFWDPLLMSCSYDE
158 0	ILB744	VGVDPCWDPLMMECAGR N	159 1	ILB758	RAFTCPWDPLIMDCAGAS
			159 2	ILB759	GDDWCAWDPIRMQCSYT K
			159 3	ILB760	EIEQCWWDPMLMEGVCS PSI
			159 4	ILB761	HGRSCAWDPLKMDCVWY H
			159 5	ILB762	RLGACVWDPLMMQCAWI S
			159 6	ILB763	LYPSCPWDPILMQCSALK
			159	ILB764	PTPLCHWDPLLMHCTASD

159 8	ILB765	TDSWCHTLYWQLHHCAIL E	161 3		FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSQFPYESPP SI
159 9	ILB766	RWNVCAWDPLLMQCASA P	161 4	ILB782	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSVCPTQPANCQ
160 0	ILB767	MSVSCNWDPLLMTCLPT	161 5	ILB783	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPCRFWPG RAFCH
160 1	ILB768	PGLRCPWDPLMMTCVAH P	161 6	ILB784	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAAGGSEC ELDYHVMVWCK
160 2	ILB769	QIAFCLWDPLLMDCTVQT	161 7	ILB785	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSFWMQQA QQHK
160 3	ILB770	SPQECPWDPIAMKCAFVR	161 8	ILB786	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSKCDWQP WFCP
160 4	ILB771	TSHPCWWDPIIMMSCWLE E	161 9	ILB787	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSFVGESQYMQTK
160 5	ILB772	VQLYCIWDPLMMDCGQR S	162 0	ILB788	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSQPWRHNMQKI
160 6	ILB773	CRNSCHWDPLIMDCMQE M	162 1	ILB789	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSQFPYESPPSI
160 7	ILB774	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSIVQHQPS RMY	162 2	ILB791	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGRGSSLGGVSPPIVSGRA SA
160 8	ILB775	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSICQATPYSPWCR	162 3	ILB792	ANSWCHTLYWQLHHCEIL E
160 9	ILB776	HRAPCFSTACRQPCFSLT	162 4	ILB793	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSIWQTEVIVPD
161 0	ILB778	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGSALRMCDSWVENR CLG			
161 1	ILB779	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSAQWQCHIN PTGMACVDMLQG			
161 2	ILB780	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSHPWHRN MQKI			

162 5	ILB794	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSRVRLDHWEQV	163 7	ILB809	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSECMSSW HGCT
162 6	ILB797	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGDGSIE HHGAWSAQ	163 8	ILB810	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GSDAWGCLDDFFMKVAG CKTLF
162 7	ILB798	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPVLGCRNV HNTQCRLWFQG	163 9	ILB811	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSQFLLCNGS EWCPANRQG
162 8	ILB799	GLHGCQYVQMFFHFCAPK T	164 0	ILB812	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSFCMWPF IPPR
162 9	ILB800	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSHW ERCVPHSDPDYNCSFDS	164 1	ILB813	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSGMGEDDI WHQ
163 0	ILB801	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGSGWVFRCKNMPCA KAEH	164 2	ILB814	PDSRCHTLYWALRYCAY QE
163 1	ILB802	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSPPHPSNSI WR	164 3	ILB815	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGSW HSYTAMYAD
163 2	ILB803	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSRLS LHCPEHPCGSSWTQG	164 4	ILB816	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSGMVSHW KKVQ
163 3	ILB804	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSPDWITWQPAW	164 5	ILB817	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GSQGMPCQYHAMQLCPPS R
163 4	ILB806	FQGHICALFPTDWICTLKS	164 6	ILB818	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSHQHNFQLRYT
163 5	ILB807	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSVGLLCQDF AYGQTHCDVLQGG	164 7		FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSLCDQWQ
163 6	ILB808	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGDGSMCYQEP HFTYCP			

164 8	ILB820	FNEDCMWDPLLMDCAYS P	165 9	ILB832	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSRMRSVCPH HVCWRGVPQG
164 9	ILB821	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSYCHEDPR SLDCR	166 0	ILB833	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGSPKSECVAPLEMIEC PSLW
165 0	ILB822	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSHPWRHN MHKI	166 1	ILB834	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSSVFWCYSQ HGCALTSQG
165 1	ILB823	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPLVDCLTY PEWVNCPRTIQG	166 2	ILB835	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSRAWQFP VSS
165 2	ILB824	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSDCNFAPK ETNCW	166 3	ILB836	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAAGGSIC MEYPIIRPCT
165 3	ILB825	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GSKTLFCGYDGYDMCDLS A	166 4	ILB837	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPCLSWYV APMF
165 4	ILB826	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSWNRHPPP SGQ	166 5	ILB838	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSADDCCVSH LPFIGYCGFVRQG
165 5	ILB827	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSMQYHPWQDMW	166 6	ILB840	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GSGEDQCKLFGSGLDTCIP YV
165 6	ILB828	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSSCNITDQ MGVCL	166 7	ILB842	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPCVKAPE FDWCT
165 7	ILB829	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAAGGSWD DTCNAEVYQQGLMCDTR VQG	166 8	ILB843	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSHECAVHY QHGCOPYASQG
165 8	ILB831	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSARRGCV LNECSSVSQG	166 9		FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG

167 0	ILB845	QAASAPASEPPGSLCLPDQ FRCGNGQCIPLDWVCDGV NDCPDDSDEEGCPPRTCA PSQFQCGSGYCISQRWVC DGENDCEDGSDEANCAGS VPTCPSDEFER	168 0	ILB855	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSREFTQNW SIY
			168 1	ILB856	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSAYTMWQYHKF
167 1	ILB846	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSSEEQPTW HVY	168 2	ILB857	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSYMGQIPA HNI
167 2	ILB847	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGSETFDCNTPWEHEC YGRF	168 3	ILB858	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAAGGSKC WSFSGNRPCP
167 3	ILB848	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAAGGSETL PCQYWGWQSWCSQSAQG	168 4	ILB860	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPDWITWQ PAW
167 4	ILB849	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSPCTPWTEWQQCP	168 5	ILB861	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAAGGSYQP GCAQWWDMERGCFITQ
167 5	ILB850	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSHSLCQP WHLCPAQQG	168 6	ILB862	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSSYWEHG WPWQ
167 6	ILB851	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSKCSIDVQQCM	168 7	ILB863	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSWPSPWK QMV
167 7	ILB852	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSQPWRHN MQKI	168 8	ILB864	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSDEFQFGSEMM
167 8	ILB853	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAAGGSHH KNNGTIYQ	168 9	ILB865	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSINALGVA VQH
167 9	ILB854	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPAERMK MHMF	169 0	ILB866	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSQWQWKI HPAE

169 1	ILB867	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSLCERPLH TPWA	170 2	ILB878	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSLMYMWE PRTQ
169 2	ILB868	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPWAKNR HEAV	170 3	ILB879	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSLEASCAQS DQCFRQSQG
169 3	ILB869	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSQPWRHNMQKI	170 4	ILB880	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSLCFSNWDEMKCF
169 4	ILB870	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGSIRGLSCWPQDCGL EEL	170 5	ILB881	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGSIC NWEEVDPHCA
169 5	ILB871	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSLNFGSYS TPH	170 6	ILB882	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSPWLDPQ WDIW
169 6	ILB872	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSHYLWQE KTYK	170 7	ILB883	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGSRNSWICMEWHCSD LTR
169 7	ILB873	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSDCGANHEHCS	170 8	ILB884	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGSW GYQQSWVQQ
169 8	ILB874	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSRVQIIVPEKW	170 9	ILB885	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSLTV SNCQEEICMQDEYQG
169 9	ILB875	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSEHHWEH PTNF	171 0	ILB886	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSQCKAYM PQCA
170 0	ILB876	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSSAH DCTEESWCWMEVQG	171 1	ILB887	FNEDCMWDPLLMDCAYS PAGGGSSWQRHDGHI
170 1	ILB877	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSYSF RCDVEPHQPGCFDLIQG	171 2	ILB888	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGSTR EMLVHPRH

171 3	ILB889	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSQKQKERISPWP	172 4	ILB900	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GGSPCQNQPSYQVCT
171 4	ILB890	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSFNINNIYV GN	172 5	ILB901	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSLRQ SCYPIPESEKCSFSNQG
171 5	ILB891	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSVSSYNPW IIY	172 6	ILB902	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSFFHWPTK AKE
171 6	ILB892	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSMQTSCEF EKYERHGCQQLSQG	172 7	ILB903	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGSQC EFEQEECW
171 7	ILB893	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSNCLIAEW ECE	172 8	ILB904	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGSGVT GCSGFPTTGTCSQHEQG
171 8	ILB894	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSWEVPRSL WGQQQAGPGGGSG	172 9	ILB905	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGS LDYHDIPRHA
171 9	ILB895	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSGSTASAAG GSMLECESYGIGWCSLL H	173 0	ILB906	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSATGGSAAGGGSSG WEHSSIVF
172 0	ILB896	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSHISTCKLIM GAYAHQCQTPSQG	173 1	ILB907	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSWWSPAY GWQN
172 1	ILB897	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSLQQGRRH HMR	173 2	ILB908	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGGSQCALKSF TVPCN
172 2	ILB898	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSNIDFQCYPF KCGVLFSQG			
172 3	ILB899	FNEDCMWDPLLMDCAYS PGQGSAAAGGSGCSSTPF AWSCS			

Таблица 14
Связывающие рИЛ-6 домены MRD

SE	Иденти	Пептидная	176	ILC40	TTMVFQASLG
Q	фикации	последовательность	0		
ID:	онный		176	ILC41	LCFCYEYEVVH
	номер		176	ILC42	HWEFYEFYFGI
174	ILC19	GDWEVVDWCF	2		
7			176	ILC43	LCYWEVWFTWE
174	ILC20	PCQWVIYHCF	3		
8			176	ILC44	PCYLVMMEWECM
174	ILC21	WEIEWSWYWD	4		
9			176	ILC46	GCDFYMNLC
175	ILC23	FYMEFIWSP	5		
0			176	ILC50	WQEQWWYKQH
175	ILC24	WYWMLEWEWD	6		
1			176	ILC52	SELSCYWEMKWECSWVT
175	ILC25	PCEEAFAYLE	7		
2			176	ILC53	FCWSCEVFQMEICDELG
175	ILC27	QCFAWFVWHCD	8		
3			176	ILC55	HALHCANEERIFVQCLESS
175	ILC28	YTWDLYTYQA	9		
4			177	ILC56	VYLECNVYEWPEAWCVV MP
175	ILC31	MYTEWQMWWIGQAGQG GGSGGGGSFYDQWEVEL H	0		
5			177	ILC57	TQHLCARDVRSQADMCI YWT
175	ILC33	AEFDWMQYGYGQAGQG GGSGGGGSYEFNWKYQE W	1		
6			177	ILC58	QVYVCYVLAEQHEAICTS WA
175	ILC34	YMQWKVEWWG	2		
7			177	ILC59	LTWVCTVMQHMNHMEC LLDL
175	ILC35	WEITWDWEYY	3		
8			177	ILC60	MLLHCPAMWKCQSDL
175	ILC39	WCLITPWEVQCY	4		
9			177	ILC61	LTWDCYQVFEEWYDCTM SH
			177	ILC62	VWGGCWYHFTIQHCPT LS
			6		

177 7	ILC63	MTILCYEQREDMWDCWN VF	179 3	ILC93	SEFIFCDLEMVFRECHGTT
177 8	ILC64	LDCACHFEEHVRTIFCSIG H	179 4	ILC95	SEFVYCMLDMVFRECHGT A
177 9	ILC65	WLVDWCWVVEDMNMICRL YE	179 5	ILC96	SELILCALEMVFNECHGA V
178 0	ILC66	LDFLCYENIHNNFDCFRV M	179 6	ILC97	SDLVLCEWDMVVFRECHG VF
178 1	ILC67	VASHCIQMPHWLLCQTLI	179 7	ILC99	SDLIWCELDLMVFRECHGA A
178 2	ILC70	WTVWCEWENEYGGWCD VSL	179 8	ILC102	SSFVFCDLEMVFRECHGV F
178 3	ILC71	LQCKCDEPYPSYYTCRVY F	179 9	ILC103	SDLILCNLEMVFKECHGVI
178 4	ILC74	GPFCMMDLHRDELLHC WASD	180 0	ILC106	SSLILCDLEMVFKECHGVL
178 5	ILC75	VAVDCFWVTPYEPWYCT VMS	180 1	ILC108	SEIVLCEWAMVLAECHGA A
178 6	ILC77	MTDRCYTYEWQYTVCYG RN	180 2	ILC144	SRCDRVLGTHINL
178 7	ILC80	RDWRCYLAHWVHVCG PFIGQAGQGPGWAGGSD MDLCQDWVYESK YCVPL A	180 3	ILC164	SHEEWTCFPYLCTFWAE
178 8	ILC83	SRYVICDLDMVFRECHGA F	180 4	ILC165	SEEEWTCFPYLC SIWLE
178 9	ILC84	SALVLCELEMVFRECHGV L	180 5	ILC166	SQEEWTCFPYLC SYWLE
179 0	ILC86	SEFILCDLAMVFAECHGA A	180 6	ILC167	SQEEWTCFPYLC SFWSE
179 1	ILC89	SELLCAFDM VISECHGTT	180 7	ILC169	SHEEWTCFPYLCKYWLH
179 2	ILC90	DSFGCTWEVWGRECHPQ L	180 8	ILC170	SHEDWTCFPYLCKVLLH
			180 9	ILC171	SHEEWTCFPYLCENWLH

181 0	ILC172	SEEEWTCFPYLCTDWVH	182 7	ILC190	SDEEWTCFPYLCTFWLQ
181 1	ILC173	SEEEWTCFPYLCTILLQ	182 8	ILC191	SEEEWTCFPYLCRNWLD
181 2	ILC174	SDEEWTCFPYLCSVWVE	182 9	ILC192	SEEEWTCFPYLCGLWVE
181 3	ILC175	SEEEWTCFPYLCSYLLH	183 0	ILC193	SEEDWTCFPYLCRILLD
181 4	ILC176	SHEDWTCFPYLCKYLLD	183 1	ILC194	SHEDWTCFPYLCRILSH
181 5	ILC177	SQEEWTCFPYLCREWVE	183 2	ILC195	SEEEWTCFPYLCTNWLD
181 6	ILC178	SDEEWTCFPYLCSEQWVE	183 3	ILC196	SEEEWTCFPYLCSDWLE
181 7	ILC179	SEEEWTCFPYLCREWAH	183 4	ILC197	SEEEWTCFPYLCTHWLH
181 8	ILC180	SEEEWTCFPYLCSYWLD	183 5	ILC198	SEEEWTCFPLCNFWSQ
181 9	ILC181	SEEEWTCFPYLCSEQWLE	183 6	ILC199	SQEEWTCFPYLCTYWLQ
182 0	ILC182	SEEEWTCFPYLCTNWLH	183 7	ILC200	SHEEWTCFPYLCTYWSH
182 1	ILC183	SHEDWTCFPYLCRILVE	183 8	ILC201	SDEEWTCFPYLCSIWAQ
182 2	ILC184	SDEEWTCFPLCTQLLQ	183 9	ILC202	SDEEWTCFPYLCYWVD
182 3	ILC185	SEEDWTCFPYLCRILVE	184 0	ILC203	SHEEWTCFPYLCRILLD
182 4	ILC186	SHEEWTCFPYLCGKWAE	184 1	ILC204	SQEEWTCFPYLCTDWLH
182 5	ILC187	SHEDWTCFPYLCSILLQ	184 2	ILC205	SEEEWTCFPYLCSEWLE
182 6	ILC189	SHEDWTCFPYLCRVLLE	184 3	ILC206	SHEDWTCFPYLCTLLLQ

184 4	ILC207	SHEDWTCFPYLCNILLQ	186 1	ILC225	SDEEWTCFPTLCSLWSE
184 5	ILC208	SEEEWTCFPYLCSHWAE	186 2	ILC226	SDEEWTCFPSLCSFWLD
184 6	ILC209	SHEEWTCFPYLCKILLE	186 3	ILC227	SQEEWTCFPYLCTDWVQ
184 7	ILC210	SQEEWTCFPYLCSYWLQ	186 4	ILC228	SEEEWTCFPYLC SILVD
184 8	ILC211	SEEEWTCFPYLCSIWLD	186 5	ILC229	SEEEWTCFPYLCSKLLH
184 9	ILC212	SHEEWTCFPTLCTDWLQ	186 6	ILC230	SEEEWTCFPYLCGKWLQ
185 0	ILC213	SEEEWTCFPSLCTIWLQ	186 7	ILC231	SEEEWTCFPYLCTQLLH
185 1	ILC214	SHEEWTCFPYLCSDWLQ	186 8	ILC232	SDEDWTCFPYLCRILLE
185 2	ILC215	SEEEWTCFPYLCSLWVD	186 9	ILC233	SQEEWTCFPSLCSDWVQ
185 3	ILC216	SHEEWTCFPYLCSVWAQ	187 0	ILC234	SDEEWTCFPYLCSFWAQ
185 4	ILC218	SHEEWTCFPYLCSLWAQ	187 1	ILC236	SEEEWTCFPYLCRELLE
185 5	ILC219	SDEEWTCFPTLCTDWLQ	187 2	ILC237	SEEEWTCFPSLCGVWAE
185 6	ILC220	SQEEWTCFPYLCSHWLD	187 3	ILC238	SHEEWTCFPYLCTVWAE
185 7	ILC221	SEAEWTCFPYLCSDWLH	187 4	ILC239	SEEEWTCFPYLCTNLVE
185 8	ILC222	SEEEWTCFPYLCGQWVE	187 5	ILC240	SQEEWTCFPYLC SKWVD
185 9	ILC223	SDEEWTCFPSLCSFWLE	187 6	ILC241	SQEEWTCFPYLCSDWLQ
186 0	ILC224	SEEEWTCFPYLCTLWSQ	187 7	ILC242	SDEEWTCFPYLC SYWLQ

187 8	ILC243	SDEEWTCVPSLCAKLADG QAGQAAAGGSHEEWTCF AYLCGLLAD	189 4	ILC269	SEEEWTCFPYLCTYWVD
187 9	ILC244	SHEEWTCFPYLCTYWLQ	189 5	ILC270	SDEEWTCFPYLCDYWLH
188 0	ILC247	SEEEWTCFPYLCSEWAQ	189 6	ILC274	SHEEWTCFPYLCSEWLE
188 1	ILC248	SEEEWTCFPYLCSQWLH	189 7	ILC275	SDEEWTCFPYLCTDWLH
188 2	ILC249	SDEEWTCFPYLCSEWLQ	189 8	ILC276	SHEEWTCFPYLCNLLSH
188 3	ILC250	SACEEFAAAYLEDSAV	189 9	ILC277	SQDEWTCFPSLCSDLSE
188 4	ILC253	SDEEWTCFPYLCEYWLQ	190 0	ILC280	SEEEWTCFPYLCSEWLQ
188 5	ILC254	SQEEWTCFPYLCRILVD	190 1	ILC281	SEEEWTCFPYLCSEWLQ
188 6	ILC257	SHEEWTCFPYLCSEWLE	190 2	ILC282	SHEEWTCFPYLCSEWLE
188 7	ILC258	SEEEWTCFSLCKILLQ	190 3	ILC283	FMV HCTWYDVTID CVGPT
188 8	ILC259	SEEEWTCFPYLCSEWLE	190 4	ILC284	SDI SCSYIDGWYQ CLLHL
188 9	ILC260	SACEEFAAAYLEDGLM	190 5	ILC285	WGC LCQQQGHFME CEITW
189 0	ILC262	SEEEWTCFPSLCSNLVQ	190 6	ILC286	ESL LCIQHDVWVD CYIVE
189 1	ILC263	SHEEWTCFPYLCSEWLE	190 7	ILC287	NSS FCYIHAIEWV CESSS
189 2	ILC264	SHEEWTCFSLCTLWSH	190 8	ILC288	DLL YCEWEMVVRE CHGTIGQ
189 3	ILC265	SEEEWTCFPYLCSEWLE	190 9	ILC292	QIVECWTEMDWHHCVL F

Таблица 15
Связывающие ИЛ-17а домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикации онный номер	Пептидная последовательность	194 6	ILA19	LGLWCWMFPIDSFCYPAV
			194 7	ILA23	LHLWCWMFPLDDACADF F
			194 8	ILA24	LDLWCWFPNDDWCMTHL
193 2	ILA1	LSLWCWHDQAEFCVESN	194 9	ILA25	MVLDCYHIEELDEYCDW YS
193 3	ILA2	SKYDCFWHEHWLYCAPR M	195 0	ILA26	LGLWCWMFPIDSFCYPAI
193 4	ILA3	FDLYCWVWPDMMECTAG T	195 1	ILA27	YDVWCFFFPDEIMCNETQ
193 5	ILA4	GTWDCWVEGEWVYCTP WS	195 2	ILA28	VEIDCEYDWMNEYLYCAP RV
193 6	ILA5	STEGCHQDWYDLCAFLA	195 3	ILA29	KCNFNPWKAACG
193 7	ILA6	LSLWCWMFPEHNACLSPV	195 4	ILA30	DWLHCEIKPPFYHCWNMT
193 8	ILA7	ESLWCWMFPNEQTCLVQ H	195 5	ILA31	LSLWCWINDVNCSEPV
193 9	ILA8	VSYLCDEYQGLLYCMVQ R	195 6	ILA33	LSLWCFIDETSEQCSILS
194 0	ILA9	LDLWCWFPNDTKCMRLT	195 7	ILA34	MDLSCWMTDPTLEWWFC EYRP
194 1	ILA10	LGLWCFVYPDDQMCIRS W	195 8	ILA35	LNLWCWMFPAAAECEFD Q
194 2	ILA11	MGELCEFFGFHDCPMQI	195 9	ILA36	WCFGCVIPPFWYECMCPT
194 3	ILA12	SETLCWDGWDIWICQDPQ	196 0	ILA37	LTLCWIFPQDEICWTML
194 4	ILA13	DWATCWEFNELWYCIPY N	196 1	ILA38	IFFDCTFSDWQLDCVELD
194 5	ILA16	IDPGCWLTWPSFQCPGYM	196 2	ILA39	LALWCWMFPMSDECPPK H

196 3	ILA40	GHIGCWGPEWYCHWYG	198 0	ILA62	LTMWCEEMIKDEWWCVP AI
196 4	ILA43	VDELCVFMFGQSDCRNLF	198 1	ILA63	NALWCWFPEASECGLME
196 5	ILA44	LSLWCWAFPSDTVCLARL	198 2	ILA64	YTYYCVETEYNMVCELD Y
196 6	ILA45	STWECWEVNNETYECAR LL	198 3	ILA65	IGWQCEYLPWDECQWQF
196 7	ILA46	SNPWCHIAEYELWCWMG H	198 4	ILA66	DDLFCWMFPSAYVCLPPV
196 8	ILA47	TSWECHETGDDYFYCWH LK	198 5	ILA67	QDELCNFIFNDHCASAF
196 9	ILA48	LDLVCWMYPTEKACWSM R	198 6	ILA68	LQELCHYLGFEECVGQQ
197 0	ILA50	LGLWCWMFPWEQVCSVR L	198 7	ILA69	ASLWCWMYPNDISCFMES
197 1	ILA51	TWYLCWESQWWDVYYC EEEG	198 8	ILA71	TADLCMFLWHQDCGRIF
197 2	ILA52	MSLWCWMFPWDNMCFK FS	198 9	ILA73	LSLWCWLHDQAEFCVESN
197 3	ILA53	IRDDCQENWQSELVCFL G	199 0	ILA74	WPLECYTDEE LYDIWCLMDL
197 4	ILA55	LGLWCWMFPMDDPDCHRG Y			
197 5	ILA56	LAYECWVLEDLEYVICEQ GM			
197 6	ILA57	LFFICYETPEEYMYCLPKG			
197 7	ILA58	QSPWCFMFPQEEHCNHYN			
197 8	ILA59	LSLWCWIFPTEETCKHGL			
197 9	ILA61	HSAWCWFPEDNICLDRR			

Таблица 16
Связывающие TLA домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикации онный номер	Пептидная последовательность	200 7	TLA58	GEDTCHWVHFIDDWYCL APM
			200 8	TLA62	EVTICQYTEDFTYYCYTRP N
199 3	TLA26	LLGDCFAGFDNIWCEFLD	200 9	TLA70	EVCWDSESESIQWCDME W
			201 0	TLA72	PFVVCYTQWQGEREFHNC WKLQ
199 4	TLA29	KCNFNPWKAACG	201 1	TLA77	QTVRVCFYDRCQDVKF
199 5	TLA30	QTFWCYDDWHECSGKP	201 2	TLA81	QKAICWNTEHITYYYCSR PN
199 6	TLA34	LNHSCWWDEWEECPHN V	201 3	TLA85	SSWDCMGGPIVWVCPEGR
199 7	TLA37	KVEYCYDDWHQCKQVQ	201 4	TLA88	RVEECSEYFRQLANY
199 8	TLA38	DDSMCAWWDEWHECEH HS	201 5	TLA89	DYDVCWDVLADRLYYCD EPI
199 9	TLA39	EYMYCYDDWYDC	201 6	TLA90	DSFGCTWEVWGRECHPQ L
200 0	TLA43	DNTDCYYQGYWVYCTDL N	201 7	TLA91	DYDVCWDLEVDRLYYCD DPL
200 1	TLA44	RSDVCWDMAAQHLFYCG EWI	201 8	TLA92	DYDVCWDVQLDRLYYCD VPM
200 2	TLA46	RYDVCWDQKLQELYYCS YYH	201 9	TLA93	DYDVCWDIHADRLYYCN APF
200 3	TLA47	LSSVCWNNSAEKLEYCGP LE	202 0	TLA94	DIDVCWDIAADRLFYCHA PM
200 4	TLA49	HITICDYQEYFYMCTILY	202 1	TLA95	DHDVCWDIDIDRLYYCEG PW
200 5	TLA50	DMAGCHWDPVYINFDCR ASM	202 2	TLA97	MYDVCWDLQVDKLYFCG DDL
200 6	TLA56	KFNECFVGYDYIWCNSSV	202 3	TLA98	DWDVCWDVEVDRLFYCE APT

2024	TLA99	DFDVCWDLDLRLVYCD APM	2041	TLA11	DYDVCWDVDEDRLYYCN VPI
2025	TLA101	DYDVCWDVHLDRLYYCN SPI	2042	TLA120	DYDVCWDLDFDRLYYCH PAE
2026	TLA102	DYDVCWDIDEDRLYYCD AFL	2043	TLA121	RWDVCWDYHADKLFFCN EDL
2027	TLA103	DYDVCWDLVDRLLYYCD GPT	2044	TLA122	DYDVCWDVLDRLYYCE APM
2028	TLA104	DYDVCWDIYDDRLLYYCD TPV	2045	TLA123	EYEVWCWDVHVHRLVFCN VPV
2029	TLA105	ALDVCWDIEEDRLYYCDA PL	2046	TLA125	KTDVCWDLKLYFCDI DT
2030	TLA106	DYDVCWDVYHDLRFYCE DHL	2047	TLA126	RDDVCWDYNTDKLYFCG SNI
2031	TLA107	DYDVCWDFEVDRLLYYCD GPG	2048	TLA127	DYDVCWDYDVRLLYYCD FPV
2032	TLA108	EYDVCWDIDVDRLLYYCAS PM	2049	TLA128	NYDVCWDVSEDRLYYCD APR
2033	TLA109	DYDVCWDIELDRLLYYCD ASI	2050	TLA129	DWDVCWDLLEDRLYYCE DPM
2034	TLA110	DYDVCWDVELDRLLYYCE APL	2051	TLA130	EYDHCWDVSRKLELCW EHN
2035	TLA111	YYDVCWDLDLILYYCD APG	2052	TLA131	EYAVCWDEAQQKLWCK DLN
2036	TLA113	DYEVWCWDLQMDRLYYCE ASI	2053	TLA133	DYDVCWDIYEDRLFYCE MHV
2037	TLA114	IFDVCWDVDEDRLYYCQA ET	2054	TLA134	KLDVCWDLVDRLYFCD APM
2038	TLA115	YTDVCWDIDVDRLLYYCD ADV	2055	TLA135	DYDVCWDVLVDRLLYYCD VPM
2039	TLA117	EDAVCWDPAAHEKLVWCN RFE	2056	TLA136	DYDVCWDLHLDRLLYYCH AYC
2040	TLA118	DYDVCWDVNADRLFYCD DAI	2057	TLA138	DYDVCWDIDLDRLLYYCD AGS

205 8	TLA13 9	DYDVCWDIDADRLYYCH AAM	207 5	TLA29 6	EYALCWVEAQEKLWCK DLI
205 9	TLA14 0	KYDVCWDDYLDILYYCN GPL	207 6	TLA29 7	DYAVCWVEDQGKLVWC NGVN
206 0	TLA14 1	HLDVCWDIDLHLYYCDL GM	207 7	TLA29 8	DYAVCWDEAQEKLWVCN GLS
206 1	TLA14 2	MYDVCWDLEVDRLYYCE APM	207 8	TLA29 9	EYAVCWVHSQEKLWCT GSK
206 2	TLA14 3	EYDVCWDIDSDRLYLCVG LM	207 9	TLA30 0	EYAVCWNEARGKLEYCT ALK
206 3	TLA14 4	DYDVCWDVHADRLYYCK EDI	208 0	TLA30 1	DYAVCWDEHKQKLEFCR TFI
206 4	TLA14 5	DYDVCWDLNLDRLYYCD SPM	208 1	TLA30 2	EYTVCWSDASNEKLYFCH YPL
206 5	TLA14 6	EYDVCWDVQNDRLYYCD APE	208 2	TLA30 3	SLDVCWDHHLDKLTFCNL NM
206 6	TLA14 7	DYDVCWDYDVRDRLYYCN FQS	208 3	TLA30 4	QLDVCWDDHYQKLYFCY ARI
206 7	TLA14 8	DYDVCWDYKIDHLYYCD GPV	208 4	TLA30 6	SYDVCWDSRLTKLVYCN ASN
206 8	TLA14 9	GYDVCWDYEDRLFYCES PL	208 5	TLA30 7	QYAVCWDEALEKLLWCK ELH
206 9	TLA15 0	DYDVCWDLNDRLFYCD SAM	208 6	TLA30 8	DYAVCWSEAQDKLEWCI GHN
207 0	TLA29 0	KFHVCWDSHQDKLVYCS LKV	208 7	TLA30 9	EYAVCWVEEHEKLLWCE GLN
207 1	TLA29 1	LEFVCWDDDRGKLVFCA GHM	208 8	TLA31 0	EYSVCWVVDQEKLWCR SLH
207 2	TLA29 3	GHEVCWDMHNEKLVFCR THI	208 9	TLA31 1	EYAVCWSEAQGKLEWCQ GSN
207 3	TLA29 4	NKAVCWNYHQEKLEFCN STM	209 0	TLA31 2	DYAVCWVDVGLEKLWCK GSL
207 4	TLA29 5	TYAVCWDFNAHKLVFCD DMM	209 1	TLA31 3	PPAVCWNNSSKLVFCHS FI

209 2	TLA31 4	SSNVCWDDVLETLRFCHT HM	210 9	TLA33 3	EYAVCWDEVQDKLVWCN GVN
209 3	TLA31 5	LDQVCWDLYANKLIFCAD VI	211 0	TLA33 4	EYAVCWDEVQERLEWCT RPN
209 4	TLA31 6	NLDVCWDNNRGKLMFCR NHD	211 1	TLA33 5	EFAVCWDDGQEKLWVCN RLH
209 5	TLA31 7	SYAVCWNALEEKLVFCTD EI	211 2	TLA33 6	EYALCWNEVHEQLEFCIG RN
209 6	TLA31 8	PNEVCWDSHKEKLVFCTH QM	211 3	TLA33 7	RSEVCWDTHLFLKLVYCQD WF
209 7	TLA31 9	EYALCWLEAQEKLDWCT ELN	211 4	TLA33 8	QSYVCWDEHQSRLRFCSE TI
209 8	TLA32 1	ENAVCWDESQEKLWVCN GIR	211 5	TLA33 9	PDTVWDDHGLKLMFCSS IM
209 9	TLA32 3	ESDVCWNENVEQLEFCNG RF	211 6	TLA34 0	RNHVCWDEYTEKLRFCG DGA
210 0	TLA32 4	EYAVCWDEAPEKLIWCEG LN	211 7	TLA34 1	HSDVCWDDHMDKLAFC WHMI
210 1	TLA32 5	RWAVCWDTDRQKLLFCG PML	211 8	TLA34 2	FTAVCWWDYHSNKLQFCST LM
210 2	TLA32 6	LDLVCWDENSQKLLFCTK PG	211 9	TLA34 3	DYAVCWDDVRGKLWVC KGLK
210 3	TLA32 7	QSSVCWDYNSQKLRFC MSL	212 0	TLA34 4	EYDLCWDEIRQKLEWCQ GLT
210 4	TLA32 8	RLDVCWDEHASKLVFCRS YM	212 1	TLA34 5	EYAVCWDAENЕКLEWCE GLN
210 5	TLA32 9	ISAVCWDTQLQKLVFCNA SM	212 2	TLA34 6	KHFVCWDELNEKLVWCK GLI
210 6	TLA33 0	LDTVWWDIHSGRVFCAS LL	212 3	TLA34 7	EYAVCWNEDHAKLEWCQ ELN
210 7	TLA33 1	EYALCWDDPLEKLQWCK DIS	212 4	TLA34 9	LSMVCWDQHQRVFCIN RM
210 8	TLA33 2	EYALCWNEVQEKLWCK ELN	212 5	TLA35 0	AQYVCWDDKEQKLFCE DQM

212 6	TLA35 1	RYAVCWDESTKLVYCQ NQM	214 3	TLA37 2	EYAVCWDDAQRLEWCK EPL
212 7	TLA35 2	NEFVCWDEYKNKLVFCVP TL	214 4	TLA37 3	EYAVCWDESLEKLEWCT GLY
212 8	TLA35 3	RFFVCWDHDNSKLVFCSQ NM	214 5	TLA37 4	EYAVCWDEAQQRLIWCK GLY
212 9	TLA35 6	RYAVCWDEAQEKLWVCG RVN	214 6	TLA37 5	EYALCWDQDKELHWCV EFY
213 0	TLA35 7	AFDVCWVEALEKLEWCL GHN	214 7	TLA37 6	DNEVCWDGHDRLVFCF STM
213 1	TLA35 8	SSDVCWEAHSEKLYFCDF AR	214 8	TLA37 7	NHDVCWDFHVDRLVYCD TPI
213 2	TLA35 9	KLYVCWDKYKEKLVFCQ ALM	214 9	TLA37 8	DYAVCWDAHMDHLVYC DAIA
213 3	TLA36 0	KSEVCWDYDMNKLFCF YDM	215 0	TLA37 9	DYEVCWDDYADRLVYCD LSL
213 4	TLA36 1	LDAVCWDTQQKLRFCF THM	215 1	TLA38 0	SYEVCWDVHLDRLVYCN SVM
213 5	TLA36 2	RSDVCWDAHLDKLIFCAG VM	215 2	TLA38 1	HYAVCWDFHLDRLVYCD RPS
213 6	TLA36 4	DHAVCWNEFQEKLWCT GLN	215 3	TLA38 2	DYEVCWDVIRGLVYCET PM
213 7	TLA36 6	QNDVCWDYHRGKLAFCE ALI	215 4	TLA38 3	AYEVCWDVNLDRVLVYCE ALM
213 8	TLA36 7	DTDVCWDHVQGKLYFCT KSL	215 5	TLA38 4	GYEVCWDLKWDRLVFCF API
213 9	TLA36 8	TSDVCWNYHYSKLQFCQ QSM	215 6	TLA38 5	ALEVCWDFDVLHVLVYCA AAL
214 0	TLA36 9	LQDVCWDLYYQKLYFCH QPM	215 7	TLA38 6	EFEVCWDVHLDRLVYCH ATM
214 1	TLA37 0	STDVCWDRDHDKLMFCM SVR	215 8	TLA38 8	QYDVCWDIYSDRLVYCD AHL
214 2	TLA37 1	DYAVCWDEAQQKLGWCI GMN	215 9	TLA38 9	DYEVCWDLYLGRLYYCN API

216 0	TLA39 0	EYEVWCWDVNVDRLVYCN MPN	217 7	TLA41 0	DYEVWCWDFDFDRLVFCEA VM
216 1	TLA39 1	DYEVWCWDVHFDRLVYCD TPL	217 8	TLA41 1	DYDVCWWDVNADRLVYCN AIL
216 2	TLA39 3	DYEVWCWSDDLDRVLVCQ ALI	217 9	TLA41 2	NHDVCWEFHLDRLVYCD GPS
216 3	TLA39 4	DDAVCWWDYHLDRLVFCE TPM	218 0	TLA41 3	DYEVWCWDVQLEHLVYCE API
216 4	TLA39 5	DYDVCWDIHLDRVLVYCD GPL	218 1	TLA41 5	DDQVCWDVKIDRLVYCE ALM
216 5	TLA39 6	DYEVWCWDVQLDRVLVYCD GAM	218 2	TLA41 6	HSDVCWDFDIDRLVFCDT LI
216 6	TLA39 7	DYEVWCWDVHVERLVYCE DLI	218 3	TLA41 8	DYEVWCWDIHLDRVLVCNT PM
216 7	TLA39 8	DYAVCWWDVYADRLIYCE VPM	218 4	TLA41 9	DYDVCWDEDVDRLVYCE PPI
216 8	TLA39 9	DYEVWCWDFDIDRLVYCNP PM	218 5	TLA42 0	DYEVWCWDFDLDRVLVYCD SDV
216 9	TLA40 2	DYEVWCWDVHLDRLVYCD GPL	218 6	TLA42 1	DYEVWCWDDHLDRLVYCD APG
217 0	TLA40 3	DYSVCWDFYFDRLVYCN ALF	218 7	TLA42 2	DYDVCWDFDLDRVLVYCS GPL
217 1	TLA40 4	DYEVWCWDVHVGRILIYCN ALI	218 8	TLA42 3	DYEVWCWDDHVDRVLVYCD RTL
217 2	TLA40 5	SYDVCWDDVVDRLVYCE ATL	218 9	TLA42 4	DYEVWCWDPHVDRLVYCD APA
217 3	TLA40 6	DYEVWCWDVEVDRLVYCV GHK	219 0	TLA42 5	HYEVWCDAHFDRLVYCE API
217 4	TLA40 7	PYEVWCWDFHLDRLVFCDA DK	219 1	TLA42 6	DLEVWCWDFDVLDRVLVYCE API
217 5	TLA40 8	DYEVWCWDFLLDRVLVYCD API	219 2	TLA42 7	GFEVCWDVDLDRLVFCA ASE
217 6	TLA40 9	DWEVCWDVHLDRLVFCE TLI	219 3	TLA42 8	SYAVCWDFDLERLVYCEI PL

219 4	TLA42 9	DHEVCWDFELDRLVYCY KAK	221 1	TLA44 6	DYEVCWDVHAERLYYCD API
219 5	TLA43 0	KYEVWCWDEHIDRLVYCD VPM	221 2	TLA44 7	DHEVCWDEHVDRLVYCY KAI
219 6	TLA43 1	YSDVCWDFDLRLVYCE AHL	221 3	TLA44 8	DYDVCWDDYLDRLVYCE ARI
219 7	TLA43 2	DYEVCWDVNLDRLVYCA GPM	221 4	TLA45 0	HYDVCWDYHLDRLVYCN RHM
219 8	TLA43 3	HYDVCWDDQVDRLVYCH APL	221 5	TLA45 1	DYEVCWDIHLHLVYCD APW
219 9	TLA43 4	EYDVCWDFDIDRLVYCV LS	221 6	TLA45 2	EYDVCWDVDLRLVYCA TTY
220 0	TLA43 5	YYEVCWDLNLDRLVYCD VNK	221 7	TLA45 3	EYEVCWDFQVDRLVYCM AIT
220 1	TLA43 6	NYQVCWDFDLRLVYCG AHK	221 8	TLA45 4	DYEVCWDIIVDLRVYCEA PP
220 2	TLA43 7	DYEVCWDVYFGRLVYCD VLM	221 9	TLA45 5	YYEVCWDLYLDRLVFCN ADL
220 3	TLA43 8	EYVVCWDTEVDHLVYCD AAM	222 0	TLA45 7	DYEVCWDFREDRLVYCD SIM
220 4	TLA43 9	YSDVCWDFYYDRLVYCD ASI	222 1	TLA45 8	DYAVCWDFHLNRLVYCD VPV
220 5	TLA44 0	DYEVCWDVDVDRLVYCD GPK	222 2	TLA45 9	EYDVCWDFQLDRLVYCD SQM
220 6	TLA44 1	DYAVCWDDHVEHLVYCD ASW	222 3	TLA46 0	DYAVCWDFEDRLVYCV GPL
220 7	TLA44 2	DYDVCWDFDFERLVFCNS SM	222 4	TLA46 1	SERDCNIQMRKVPCLVM L
220 8	TLA44 3	DYAVCWDDHFDRLVYCD WTT	222 5	TLA46 4	SDWACPMYMHEIECSVR W
220 9	TLA44 4	DYDVCWDEHLDRLVYCN GLG	222 6	TLA46 8	VPEVCQWEFVKCLWNA
221 0	TLA44 5	EYEVCWDVNVDRVLWCY ATM	222 7	TLA47 5	AAWQCLDPEWWVCVML N
222 8	TLA48 5	LVSSCPYGTSAVCNGMW	223 2	TLA49 5	HVELCFDKMRYCIMEL
222 9	TLA48 9	GTVYCQPYMSVMECAFR A	223 3	TLA51 9	TLLACQLKFIKCLNNW
223 0	TLA49 1	EDFLCYPAPWVLSAAGT	223 4	TLA52 0	LVFLCPGYRAQHHCVLLS
223 1	TLA49 3	VSGGCPSYMNQWECVFR W	223 5	TLA52 1	QDRVCWDFHLQKLQFCEL SM

Таблица 17
Связывающие рЭФР домены MRD

SE	Иденти	Пептидная	226	EGA85	HSGQCTWEVWGRECWY
Q	фикации	последовательность	6		QN
ID:	онный		226	EGA86	QMDTCTWEVWGRDCIQ
	номер		7		WA
225	EGA43	WEFQCHFYZESMFECTLS	226	EGA87	DAWGCTWQVWGRECSD
2		P	8		PG
225	EGA46	WLSMCPHFYHQKCRFW	226	EGA88	HEVGCTWEVWGRDCEQI
3		K	9		R
225	EGA47	SRILCMVNPYWMACWLE	227	EGA90	DPWGCTWEVWGRECPL
4		T	0		NL
225	EGA49	GMRRCIWEYVMKHQAC	227	EGA91	DLHGCTWEIWGRECQIR
5		APIF	1		H
225	EGA50	HLCGCYLELPGVLLCYCF	227	EGA92	DPGGCTWEVWGRECQNS
6		S	2		M
225	EGA51	ARLLCVVYPGFVACVVQ	227	EGA93	DMFGCTWEVWGRECPS
7		Q	3		Q
225	EGA54	VAFRCIIDEMYMTWE	227	EGA95	DAWGCTWEIWGRECARS
8		VE	4		Y
225	EGA57	GLHGQYVQMFFHFCAP	227	EGA96	TSDSCTWEIWGRECYMQ
9		KT	5		R
226	EGA58	LLMFCHSMWWPNCYS	227	EGA98	DQYGCTWEVWGREC
0		CV	6		GA
226	EGA67	LSLRCTSEMWWGCYLVA	227	EGA99	DQYGCIWEQWGRECFVN
1			7		T
226	EGA69	EKMYCTYTHFFHMCYLP	227	EGA100	DNDGCTWEVWGRECHQ
2		P	8		FK
226	EGA70	LGVICIHWNYCKTFV	227	EGA101	EYDGCTWEVWGRECHES
3			9		S
226	EGA78	SVLGCDDVGFYQCLEFL	228	EGA102	GAGNCTWEIWGRDCPD
4			0		V
226	EGA81	LLILCFHHQLEWKWTCLT	228	EGA103	TVDRCTWEVWGRECSQN
5		ME	1		G
			228	EGA104	LADNCTWEVWGRECPIT
			2		E

228 3	EGA105	DNYGCTWEVWGRDCSK SP	230 0	EGA122	LVDLCTWEVWGRECWY SD
228 4	EGA106	DAHGCHWEVWGRECTR TA	230 1	EGA124	DSYGCTWEVWGRECPM DT
228 5	EGA107	SSDLCTWEIWGRECYSG Y	230 2	EGA125	DNWGCTWEVWGRDCHY GT
228 6	EGA108	DDFGCYWKGWGRECHL PL	230 3	EGA126	PDFGCTWEVWGREC YGV N
228 7	EGA109	DWWGCTWEVWGRECLQ LE	230 4	EGA128	QSTQCTWEVWGRECHQ MR
228 8	EGA110	DAHGCTWEVWGRECGQ WA	230 5	EGA129	LPPGCTWEVWGRDCLHP R
228 9	EGA111	DAFGCTWEVWGRECRH VV	230 6	EGA130	GEVDCTWEVWGRECYN GW
229 0	EGA112	DAWGCTWEIWGRDCAA DN	230 7	EGA131	LTVGCTWEVWGRECWQ QP
229 1	EGA113	DASGCTWEVWGRECM WH	230 8	EGA132	DDDGCTWEVWGRECLP A
229 2	EGA114	DPWACTWEVWGRECNH VG	230 9	EGA133	SLLSCTWEVWGRDCSAF Y
229 3	EGA115	ASDNCTWEVWGRECQL WG	231 0	EGA134	KDKECTWEVWGRECWQ DR
229 4	EGA116	DMYGCTWEIWGRECHIN D	231 1	EGA135	DQGGCTWQVWGRDCRS NP
229 5	EGA117	DSWGCRWEVWGRECGS DI	231 2	EGA136	DHYGCTWEVWGRECWT VG
229 6	EGA118	NPDGCTWEVWGRECYSN R	231 3	EGA137	DAFGCTWAVWGRECRH DQ
229 7	EGA119	DFFGCTWEIWGRECYWE F	231 4	EGA138	YGDSCTWEVWGRECM GR
229 8	EGA120	SSSFCTWEVWGRDCPQD Q	231 5	EGA139	TADPCTWEVWGRECHM RP
229 9	EGA121	AADRCTWEVWGRDCPQ TH	231 6	EGA140	QDWGCTWEVWGRDCQ YT

231 7	EGA141	DSWGCTWEIWGRECWG TE	233 4	EGA159	TNGFCTWEVWGRECWY GS
231 8	EGA142	SVDFCTWEVWGRECYW YP	233 5	EGA160	DLYGCTWEIWGRECHIT G
231 9	EGA143	AGDGCTWEVWGRECLQ ES	233 6	EGA161	DENGCTWEVWGRECYIQ R
232 0	EGA144	MWPNCTWEVWGRDCA WYH	233 7	EGA162	DSFGCTWEVWGRECHPQ L
232 1	EGA145	DEYGCSWEVWGRECHTT L	233 8	EGA163	NHDFCTWEVWGRECWP NA
232 2	EGA146	DQWGCTWEVWGRECAF NS	233 9	EGA164	DEHGCTWEVWGRECHRP G
232 3	EGA147	SSDPCTWEVWGRECPQG P	234 0	EGA165	DHHGCTWEVWGRDCYW AI
232 4	EGA148	LVLGCWWEVWGRECGS TA	234 1	EGA166	WQDNCWWEVWGRECL GDR
232 5	EGA149	KADHCTWEIWGRECAQY T	234 2	EGA167	PTDTCTWEVWGRECYWI R
232 6	EGA150	DDWGCSWEVWGRECQIP K	234 3	EGA168	YQDPCTWEIWGRDCHQG M
232 7	EGA151	PKYGCTWEIWGRECWHS T	234 4	EGA169	DRWGCTWEIWGRECHQ DN
232 8	EGA153	SNLGCTWELWGRDCSLY Y	234 5	EGA170	DLWGCTWEVWGRECFV VN
232 9	EGA154	DAYGCRYWELWGRDCHQ IV	234 6	EGA171	GLDGCTWEVWGRECYQ GS
233 0	EGA155	DYWGCTWEVWGRECTT NP	234 7	EGA173	LPIPCYWTTWGKECFMP R
233 1	EGA156	DIWNCTWEVWGRECYL NQ	234 8	EGA174	LPDPCYWTTWGKECFMF R
233 2	EGA157	SWSLCTWEVWGRDCYW QK	234 9	EGA175	LADPCYWTTWGKECVIP R
233 3	EGA158	DIWGCTWEVWGRECLN YY	235 0	EGA176	LTVPCYWTTWGKECFLP R

235 1	EGA177	LPAPCYWTTWGKECFILR	236 8	EGA195	LPAPCYWTTWGKECLML R
235 2	EGA178	LPAPCYWTTWGKECHMP R	236 9	EGA196	LPYPCYWTTWGKECFMH R
235 3	EGA179	LPAPCFWTTWGKECFILR	237 0	EGA197	LAAPCYWTTWGKECLMI R
235 4	EGA180	LAAPCYWTTWGKECYM PR	237 1	EGA198	LTAPCYWTTWGKECYLF H
235 5	EGA181	PTSPCYWTTWGKECYLL R	237 2	EGA199	LPAPCYWTTWGKECVLG V
235 6	EGA182	ITPPCYWTSWGKECHLFR	237 3	EGA200	LPFPCYWTTWGKECFMP R
235 7	EGA183	LPAPCYWTTWGKECFML R	237 4	EGA202	LSPPCYWTTWGKECHML Q
235 8	EGA184	LTEPCYWTTWGKECFLP V	237 5	EGA203	PNDPCYWTTWGRECLLG R
235 9	EGA185	LPAGCYWTTWGKECFM HN	237 6	EGA204	LPPPCYWTTWGKECFM D
236 0	EGA186	ITSPCYWTTWGKECFIP	237 7	EGA205	LTDPCYWTTWGRECLLP S
236 1	EGA187	LPAPCYWTTWGKECLLF G	237 8	EGA206	FNEPCYWTTWGKECYLP R
236 2	EGA188	LPAPCYWTTWGKECFMP Q	237 9	EGA207	LPAPCYWTTWGKECFM MR
236 3	EGA189	LPAPCYWTTWGKECFILS	238 0	EGA208	FPDPCYWTTWGRECLLP R
236 4	EGA190	LPTPCYWTTWGKECYVY G	238 1	EGA209	VTSGCYWTTWGKECFLP R
236 5	EGA192	LPAPCYWTTWGKECYML P	238 2	EGA210	STAACYWTTWGKECYM PR
236 6	EGA193	LTPPCYWTTWGKECFMF P	238 3	EGA211	LPGGCYWTTWGKECFMP R
236 7	EGA194	LSTQCYWTTWGKECYLF P	238 4	EGA212	IITPCYWTTWGKECYLIP

238 5	EGA213	TADPCYWTIWGRECVMS R	240 2	EGA231	VTDCYWTWTWGKECLM PR
238 6	EGA215	LADQCYWTTWGKECYL GL	240 3	EGA233	LPDDCYWTTWGKECYLQ R
238 7	EGA216	LTDP CYWTVWGRECFLL R	240 4	EGA235	DIDPCWWAPWGRECLM VR
238 8	EGA217	IDAACYWTTWGKECLLP R	240 5	EGA236	TPDPCWWATWGRECIL R
238 9	EGA218	LTAPCYWTTWGKECFLL R	240 6	EGA237	LPAPCFWTTWGKECFLL R
239 0	EGA219	LPVPCYWTTWGKECLML R	240 7	EGA238	DNDPCYWTVWGRECLM PL
239 1	EGA220	VTDCYWTTWGRECYLP H	240 8	EGA239	LTAPCYWTTWGKECLLL P
239 2	EGA221	LPAGCYWTTWGKECYM FA	240 9	EGA240	LTVPCYWTTWGKECYLL S
239 3	EGA222	FTDPCYWTVWGRECLLP R	241 0	EGA241	LIAPCYWTTWGKECYML P
239 4	EGA223	LTAPCYWTTWGKECLIL R	241 1	EGA242	LPEPCYWTTWGRECFLPR
239 5	EGA224	VTDCYWTTWGRECLML P	241 2	EGA243	LTPCYWTIWGKECFMPI
239 6	EGA225	LTSPCYWTTWGKECFML N	241 3	EGA244	LPEGCYWTTWGKECFML R
239 7	EGA226	LPVPCYWTTWGKECLMF P	241 4	EGA245	LPAPCYWTTWGKECFILL
239 8	EGA227	TADPCYWTTWGRECLMP R	241 5	EGA247	LKAPCYWTTWGKECYLL P
239 9	EGA228	LTAPCYWTIWGKECYLL P	241 6	EGA248	LKDPCYWTTWGRECLML P
240 0	EGA229	LAPPCYWTIWGKECLLLR	241 7	EGA249	VRPGCYWTTWGKECFMP G
240 1	EGA230	LPSPCYWTTWGKECFMP R	241 8	EGA250	PSDPCYWTIWGRECYMIP

241 9	EGA251	LPAPCYWTVWGKECHM SR	243 6	EGA271	LGDS CFWTTWGRECFLH P
242 0	EGA252	LSDPCYWTTWGKECFLIL	243 7	EGA272	FSDPCYWTTWGRECCLIP
242 1	EGA254	LTDHCYWTTWGRECCLLP R	243 8	EGA273	CTGPCYWTTWGRECCLS YP
242 2	EGA255	VTDP CYWTTWGREC LLL R	243 9	EGA274	ASDPCYWTTWGRECFL L P
242 3	EGA256	LPAGCYWTTWGKECHLH L	244 0	EGA276	LSDPCYWTTWGRECILLQ
242 4	EGA257	LPAPCFWTTWGKECYMF T	244 1	EGA277	LTDPCHWTTWGRECFLLP
242 5	EGA258	FSDPCYWTTWGREC FWI P	244 2	EGA278	STDLCYWTTWGREC YLP P
242 6	EGA259	LSDPCYWTTWGRECFL L P	244 3	EGA279	FSDPCS WTTWGRECFLPP
242 7	EGA260	FKDPCYWTTWGREC YLL P	244 4	EGA280	WRDPCYWATWGREC YL VP
242 8	EGA261	FPDPCYWTTWGRECILPL	244 5	EGA281	LGDP CYWTTWGREC FWL P
242 9	EGA262	LTDPCHWTTWGRECFLPP	244 6	EGA282	FRDPCYWTTWGRECFL L P
243 0	EGA263	YDDHCCYLTWGRECF L P	244 7	EGA283	LIDPCYWTTWGRECFLIP
243 1	EGA265	FSDPCIWTTWGREC FWV H	244 8	EGA284	LSDNCYWTTWGRECFL P P
243 2	EGA266	TRDTCYWTVWGRECFL P	244 9	EGA285	FTDPCYWTTWGRECFL L P
243 3	EGA268	HRAPCF SCTACRQPCFSL T	245 0	EGA286	YNDPCYWTTWGREC LLL P
243 4	EGA269	FDDPCYWTTWGRECLML P	245 1	EGA287	SSDPCYWTTWGRECFLLP
243 5	EGA270	HNDPCVWTTWGRECFL L P	245 2	EGA288	FGDPCYWTTWGREC YLL RP

245 3	EGA289	LTDPCWTTWGRECLLL P	247 0	EGA309	FSEPCYWTTWGRECYLLP
245 4	EGA290	SSDPCYWTTWGRECLLL P	247 1	EGA310	DDDDCYWTTWGRECFLL P
245 5	EGA291	LSDPCYWTTWGRECLLL P	247 2	EGA311	FSDPCTWTTWGRECFLS
245 6	EGA292	FRDPCYWTTWGRECFLP P	247 3	EGA313	FGDPCSWTTWGRECFLLP
245 7	EGA293	FDDYCCYWATWGRECY LIP	247 4	EGA314	SKDPCYWTTWGRECFLL P
245 8	EGA294	YSGPCYWTTWGRECILH P	247 5	EGA315	CTGPCYWTTWGRECCFF VP
245 9	EGA296	SSDACYWTTWGRECFLL P	247 6	EGA316	FSDPCYWTTWGRECYLR P
246 0	EGA297	FSDHCWWSTWGRECYLL P	247 7	EGA318	YSDPCYWTTWGRECFLM P
246 1	EGA298	TSDPCYWTTWGRECLLN R	247 8	EGA319	FGDPCYWTTWGRECFLL P
246 2	EGA299	TSDPCYWTTWGRECLLL P	247 9	EGA321	LTDPCYWTTWGRECFLL P
246 3	EGA300	CSGPCYWTTWGRECCFS LP	248 0	EGA322	YIDTCYWTTWGRECFLLP
246 4	EGA302	SIDSCFWTTWGRECFLLP	248 1	EGA323	FSDPCFWTTWGRECFWV H
246 5	EGA303	FSDPCYWTTWGRECFLV Q	248 2	EGA324	FSDHATGQHGVESAFCF
246 6	EGA304	FSDPCYWTTWGRECFLTP	248 3	EGA325	FNDPCIWTTWGRECFLLP
246 7	EGA305	CRDPCYWTTWGRECYLI P	248 4	EGA326	VSDPCYWTTWGRECFLLP
246 8	EGA307	FGDPCYWATWGRECFIP	248 5	EGA327	ISDPCYWTTWGRECFLLP
246 9	EGA308	FADPCYWTTWGRECLLH P	248 6	EGA328	FSDPCYWTTWGRECFWV P

248 7	EGA329	SRDPCHWTTWGRECLLL P	250 4	EGA352	FSDPCYWTIWGRECFLLP
248 8	EGA330	FSEPCYWTIWGRECFLLP	250 5	EGA354	FLDPCFWTTWGRECYLLP
248 9	EGA331	VIDTCYWTTWGRECYLL PP	250 6	EGA355	FTDPCHWTTWGRECIWL P
249 0	EGA333	ITDPCYWTTWGRECFLRP	250 7	EGA356	WRAYCHHSPWDFECFQV W
249 1	EGA335	PSDPCHWTTWGRECFLQ S	250 8	EGA358	VGDPCSWTTWGRECFLF D
249 2	EGA336	FTDPCYWTIWGRECYLD P	250 9	EGA359	FSDPCVWTTWGRECLLL P
249 3	EGA337	FSDHCWTTWGRECLLL P	251 0	EGA362	WSPRCFAWIVCLDLS
249 4	EGA338	FSDPCIWTTWGRECFWV P	251 1	EGA370	YKWVCMWTPFGHQCVS AA
249 5	EGA339	FDDHCCYWTTWGRECFR LP	251 2	EGA374	LGDPCYWTTWGRECVLL P
249 6	EGA340	FTDPCYWTIWGRECYLD T	251 3	EGA375	KKVFCYYLPFQQYCVTV S
249 7	EGA341	SIDPCYWTTWGRECFLLP	251 4	EGA376	FVTWCYAWPDSSACYGL H
249 8	EGA342	FADPCYWTIWGRECFLLP	251 5	EGA377	FSDPCYWTTWGRECFMP P
249 9	EGA344	FSDPCYWTTWGKECFLL H	251 6	EGA378	YSDPCYWTTWGRECLLL P
250 0	EGA346	AFWQCVYTPMHAMCFS HK	251 7	EGA379	WVFTCSFQFEWECVQLH
250 1	EGA347	MTIHCWQPWGCLLLFG	251 8	EGA380	PDSWCHTLYWQLLHCEM SE
250 2	EGA350	LYLSCMTGWWGEIVCVS AS	251 9	EGA381	VDSWCHTLYWQLHYCA SQE
250 3	EGA351	KGLDCVHWPGMHWCW RSD	252 0	EGA382	ADSWCHTLYWSLLHCAS SE

252 1	EGA383	PDSGCHTLYWNLQHCAS LE	253 8	EGA401	VDSWCHTLYWQLLHCA MSE
252 2	EGA384	ADSWCHTLYWQLYYCES LE	253 9	EGA402	AESWCHTLYWQLVHCTS LE
252 3	EGA386	PESWCHTLYWSLQDCVS SE	254 0	EGA403	PDSWCHTLYWDLHLCES SE
252 4	EGA387	PDSWCHTLYWQLHHCLS SE	254 1	EGA404	ADSWCHTLWWQLHHCL FEE
252 5	EGA388	ADSWCHTLYWQLLHCVT QE	254 2	EGA405	TDSWCHTLYWLLHDCTS RE
252 6	EGA389	ADSWCHTLYWSLLECES RE	254 3	EGA407	ADSWCHTLYWQLLHCV AQE
252 7	EGA390	PDSWCHTLFWDLQHCVS GE	254 4	EGA408	PDSSCHTLYWLLHCLSV E
252 8	EGA391	PDSLCHTLYWSLRHCEIE E	254 5	EGA409	PDSWCHTLYWQLHYCTI LE
252 9	EGA392	PDSLCHTLYWQLQHCAF WE	254 6	EGA410	PDSWCHTLYWQLLHCEIS E
253 0	EGA393	ADSWCHTLYWQLYYCE VWE	254 7	EGA411	PDSWCHTLYWQLLHCAA SE
253 1	EGA394	AESWCHTLYWSLHHCVY SE	254 8	EGA412	PDSWCHTLYWQLHHCVS WE
253 2	EGA395	TDSWCHTLYWNLLHCAS YE	254 9	EGA413	TDSWCHTLYWALQHCVS TE
253 3	EGA396	PDSWCHTLYWQLLHCAT LE	255 0	EGA414	PDSWCHTLYWQLLHCTT QE
253 4	EGA397	PDSWCHTLYWLLHECES RE	255 1	EGA415	ADSWCHTLYWQLLHCIS LE
253 5	EGA398	PDSWCHTLYWSLQFCESS E	255 2	EGA416	ADSWCHTLYWQLQHCLS QE
253 6	EGA399	PDSWCHTLYWQLHHCEI LE	255 3	EGA417	PDSYCHTLYWSLIHCARS E
253 7	EGA400	PDSWCHTLYWKLHHCLS ME	255 4	EGA418	TDSWCHTLYWELQYCL MQE

255 5	EGA419	TDSWCHTLYWQLHHCAI LE	257 2	EGA437	ADSWCHTLYWQLLHCET LE
255 6	EGA420	PDSWCHTLYWQLYHCVS LE	257 3	EGA438	ADSWCHTLYWQLHHCV SLE
255 7	EGA421	ADSWCHTLYWQLLHCV NQE	257 4	EGA439	ADSWCHTLYWDLHLCES LE
255 8	EGA422	PDSWCHTLYWSLLHCAR QE	257 5	EGA440	ADSWCHTLYWQLLHCEF SE
255 9	EGA423	ADSWCHTLYWALQHCA RSE	257 6	EGA441	TDSWCHTLYWNLVHCAS QD
256 0	EGA424	ADSWCHTLYWSLLHCAS ED	257 7	EGA442	PDSWCHTLYWDLLYCVN QE
256 1	EGA425	ADSWCHTLYWDLHCA NLE	257 8	EGA443	PDSWCHTLYWNLHHCLS ME
256 2	EGA426	ADSWCHTLYWQLLHCES SE	257 9	EGA444	ADSWCHTLYWALHHCSI QE
256 3	EGA427	PDSWCHTLYWDLHCPA GE	258 0	EGA445	TDSWCHTLYWALQHCV AQE
256 4	EGA428	ADSWCHTLYWQLHHCTS LE	258 1	EGA446	PDSRCTLYWALRYCAY QE
256 5	EGA429	ADSWCHTLYWSLQHCAS SE	258 2	EGA447	ADSWCHTLYWNLLYCAI RE
256 6	EGA430	PDSWCHTLYWQLYHCE MSE	258 3	EGA448	VDSFCHTLYWQLIHCPIE E
256 7	EGA431	PDSWCHTLYWDLMHCH HEE	258 4	EGA449	ADSWCHTLYWNLLHCR ALE
256 8	EGA432	PDSWCHTLYWQLYYCAT SE	258 5	EGA450	PDSWCHTLYWQLLDCAT RE
256 9	EGA434	ADSWCHTLYWQLLHCAS GE	258 6	EGA451	ADSWCHTLYWNLRHCEI QE
257 0	EGA435	ADSWCHTLYWQLYHCA YWE	258 7	EGA452	PNSWCHTLYWDLHCVS RE
257 1	EGA436	TDSWCHTLYWSLAHCAF LE	258 8	EGA453	ADSWCHTLYWQLHHCAI SE

258 9	EGA454	ADSWCHTLYWSLLHCES FD	260 6	EGA474	PDSWCHTLYWSLQHCLN ME
259 0	EGA455	ADSWCHTLYWQLQHCV SWE	260 7	EGA475	PDSWCHTLYWSLYHCTIS D
259 1	EGA456	ADSWCHTLYWQLQHCIS YE	260 8	EGA476	ADSWCHTLWWQLLHCE SGE
259 2	EGA457	PDSWCHTLYWSLQHCAI YE	260 9	EGA477	SDSWCHTLYWSLRHCES LE
259 3	EGA458	PDSWCHTLYWQLLDCTS SE	261 0	EGA478	ADSWCHTLYWDLQHCL RWE
259 4	EGA459	PDSWCHTLYWHLQHCLS QE	261 1	EGA479	PDSWCHTLYWQLLYCES WE
259 5	EGA460	AESWCHTLYWSLYHCAS EE	261 2	EGA480	ANSWCHTLFWDLHHCLS LE
259 6	EGA461	PDSWCHTLYWQLQHCVS WE	261 3	EGA481	ADSWCHTLYWQLYHCTS LE
259 7	EGA462	ADSWCHTLYWQLLHCVS QE	261 4	EGA482	PDSWCHTLYWQLRHCEI SE
259 8	EGA463	ADSWCHTLYWQLQYCV MQE	261 5	EGA484	PDSGCHTLYWSLQHCTF WE
259 9	EGA465	ADSWCHTLYWQLLHCES LE	261 6	EGA485	ADSWCHTLYWQLYHCE VLE
260 0	EGA468	ADSWCHTLYWQLHHCV LEE	261 7	EGA486	PDSWCHTLYWDLHWCV SLE
260 1	EGA469	PDSWCHTLYWSLHHCLIS E	261 8	EGA487	ADSWCHTLYWSLLHCAI GE
260 2	EGA470	PDSWCHTLYWQLIHCE QE	261 9	EGA489	ADSWCHTLYWQLHHCL WLE
260 3	EGA471	PDSWCHTLYWNLQHCE ME	262 0	EGA490	ADSWCHTLYWSLAHCLS GE
260 4	EGA472	ADSWCHTLYWQLKHCEF TE	262 1	EGA491	AESWCHTLYWDLHYCV YHE
260 5	EGA473	ADSWCHTLYWNLLYCA NQE	262 2	EGA492	SDSWCHTLYWSLQHCVI SE

262 3	EGA493	ADSWCHTLYWNLLHCEY RE	263 9	EGA511	AASWCQALYWHQFCCA SWE
262 4	EGA494	ADSWCHTLYWQLLHCAS EE	264 0	EGA514	ADSWCHTLFWQLQHCV WQE
262 5	EGA495	PESWCHTLYWQMIFCESF E	264 1	EGA515	TDSWCHTLYWSLLHCES LG
262 6	EGA496	ANSWCHTLYWQLHHCEI LE	264 2	EGA517	PDSWCHTLYWQLYHCLS LE
262 7	EGA497	PDSWCHTLYWALHHCAS SE	264 3	EGA519	SPDSCWWAIWGKECILLP
262 8	EGA498	PDSSCHTLYWQLHHCAR RE	264 4	EGA520	LSSGCYWAVWGRECLLI P
262 9	EGA499	ADSWCHTLYWDLQHCLI LE	264 5	EGA521	LADGCWWAAWGRECLL PP
263 0	EGA500	ADSWCHTLFWNLKHCLI QE	264 6	EGA522	LPGGCWWSAWGRECILL P
263 1	EGA502	ANSWCHTLYWDLMYCV WQE	264 7	EGA523	LPEGCWWAVWGRECQL QP
263 2	EGA503	ADSWCHTLYWQLHHCV TLE	264 8	EGA524	LPEGCWWSTWGRECLLL P
263 3	EGA504	PDSWCHTLYWALHHCVS SE	264 9	EGA526	LPEGCYWAIWGKECFLPP
263 4	EGA505	GGSGCHGYLWQLLHCET WEGQAGQAAAGGSTDS WCHTLYWQLYHCASSE	265 0	EGA527	LPDGCWWAQWGRECLL LP
263 5	EGA506	PESWCHTLYWNLQHCLS GE	265 1	EGA528	DPDGCHWEVWGRECILL P
263 6	EGA507	PDSWCHTLYWQLIHCESL E	265 2	EGA529	LPEGCWWATWGRECLLP P
263 7	EGA509	PDSWCHTLYWVLLDCAR HE	265 3	EGA530	LPDGCWWSLWGRECFLLP P
263 8	EGA510	PDSWCHTMYWSLIHCMN ME	265 4	EGA531	LLDVCWWSTWGRECLL QP
			265 5	EGA532	LPEGCWWAHWGRECV

265 6	EGA533	LPDDCYWAQWGRECHM LP	267 3	EGA551	LPDGCWWSPWGRECILL P
265 7	EGA534	LPEGCYWAVWGRECILP R	267 4	EGA552	LPDGCWWAVWGRECILP P
265 8	EGA535	VPEGCWWSPWGRECLLP P	267 5	EGA553	LPEGCWWATWGKECVL LP
265 9	EGA536	LPSGCWWAVWGKECLL LP	267 6	EGA555	LPDGCWWSAWGKECFL P
266 0	EGA537	MPEGCWWSLWGRECML LP	267 7	EGA556	LPEGCWWSVWGKECLL P
266 1	EGA538	LPEGCWWATWGKECLL P	267 8	EGA557	LPEGCWWAHWGRECLL QP
266 2	EGA539	LPEGCYWAIWGKECYLQ A	267 9	EGA558	FPERCWWAMWGKECYL LP
266 3	EGA540	LPEGCWWATWGRECFL P	268 0	EGA559	LPEGCWWTVWGKECYL LP
266 4	EGA541	PPDGCWWAVWGRECLL LP	268 1	EGA560	LSADCWWSPWGRECILK P
266 5	EGA542	LPESCWWSPWGRECLLP P	268 2	EGA561	PSQGCWWSVWGRECFLP P
266 6	EGA543	LSEGCWWAVWGKECILP P	268 3	EGA562	FPEECWWATWGRECFLP R
266 7	EGA544	LSEGCWWAVWGRECLL QP	268 4	EGA563	FPEGCWWATWGKECLLR P
266 8	EGA545	LPVGCWWSVWGRECLLP P	268 5	EGA564	LPDGCWWALWGKECFL MH
266 9	EGA546	VPAGCWWAPWGRECILS P	268 6	EGA565	LPEGCYWAQWGKECFLV P
267 0	EGA547	LPSACNWSWQCFWL P	268 7	EGA566	LADSCYWTIWGRECLLP
267 1	EGA548	LPEGCWWAVWGKECVL SP	268 8	EGA567	FPADCWWSTWGRECFLQ P
267 2	EGA550	LPEGCWWSSWGKECFLH P	268 9	EGA568	LPEGCYWAVWGRECYL VP

269 0	EGA569	LPEGCWWAVWGRECLL LP	270 7	EGA586	SAEGCWWAVWGRECLL LP
269 1	EGA570	DPEGCFWAVWGRECLLQ P	270 8	EGA587	LPEGCYWAIWGRECLLP R
269 2	EGA571	FADGCWWEVWGRECLL LP	270 9	EGA588	LPEGCFWAVWGKECFL P
269 3	EGA572	DPEGCWWAVWGRECLL RP	271 0	EGA589	LTEGCWWAQWGRECILL P
269 4	EGA573	VSEGCWWAIWGRECILL P	271 1	EGA590	LPKGCFWTTWGKECLLL P
269 5	EGA574	LPEGCWWSPWGKECLM TP	271 2	EGA591	LPEGCWWTVWGRECLLL P
269 6	EGA575	LPDGCWWALWGKECILR P	271 3	EGA592	LPDDCWWAPWGRECFLR P
269 7	EGA576	LPDGCWWSQWGRECILV P	271 4	EGA594	DSDCYWAVWGRECFLL P
269 8	EGA577	LPQDCWWAIWGRECFML P	271 5	EGA595	LRDGCWWAIWGRKCLLL P
269 9	EGA578	LPDVCWWAVWGRECLL MP	271 6	EGA596	VDEGCWWAVWGRECVL PE
270 0	EGA579	LPEGCWWAKWGKECVL PS	271 7	EGA597	HTDGCWWAQWGRECLL VP
270 1	EGA580	LPEGCYWTIWGRECFLLP	271 8	EGA598	LPEGCWWAPWGKECLLL P
270 2	EGA581	LPESCWWAVWGRECLLS P	271 9	EGA599	LPDGCWWASWGRECFLI P
270 3	EGA582	SPDGCWWSQWGRECIML P	272 0	EGA600	LPEGCWWAVWGRECILL S
270 4	EGA583	KPESCWWANWGRECLLL P	272 1	EGA601	LPDACWWSVWGKECILE P
270 5	EGA584	LSEGCWWATWGKECLLL P	272 2	EGA602	DPHGCWWSPWGRECIVL LD
270 6	EGA585	VAGGCWWATWGRECLL PP	272 3	EGA603	LPQGCYWAVWGRECLLP L

272 4	EGA604	LDAPCYWTVWGKECFLF S	274 1	EGA621	LPDGCWWAKWGKECLL WP
272 5	EGA605	DHYGCYWTQWGRECFLP MY	274 2	EGA622	LPDGCWWSVWGKECILL P
272 6	EGA606	LPEGCYWAVWGKECFL P	274 3	EGA624	RSEGCWWATWGRECFL HP
272 7	EGA607	LHEGCWWAVWGKECFL LP	274 4	EGA627	LPEVCWWATWGHECLLL P
272 8	EGA608	LPEGCWWSKWGRECILV P	274 5	EGA628	LPEGCWWSSWGRECFL P
272 9	EGA609	LPQGCWWANWGRECFL LP	274 6	EGA629	LPEGCYWATWGKECLLQ P
273 0	EGA610	LPEGCWWATWGRECILL P	274 7	EGA630	LPQGCWWATWGRECLL RP
273 1	EGA611	ISDGCWWAIWGRECLLM P	274 8	EGA631	LPDGCWWAVWGRECLL LP
273 2	EGA612	TPDGCYWAVWGRECFLR P	274 9	EGA632	VSEGCWWAIWGRECFLQ P
273 3	EGA613	LPDGCWWAIWGRECLLP P	275 0	EGA633	VADGCVWMVWGRECLL LP
273 4	EGA614	FADGCWWAVWGRECFLW EP	275 1	EGA634	VPEACWWALWGRECILR P
273 5	EGA615	LPEGCWWAVWGKECFM LP	275 2	EGA635	LPQGCYWTVWGRECLLV P
273 6	EGA616	LPEGCWWSTWGKECVLL P	275 3	EGA636	QPEYCWWATWGRECLL VP
273 7	EGA617	LPDGCWWSLWGKECHL LQ	275 4	EGA637	LPEGCFWAIWGSECLLLP
273 8	EGA618	LPEGCWWAHWGKECQL RP	275 5	EGA638	LPEACWWSTWGRECLL P
273 9	EGA619	DPEGCWWATWGRECLL LP	275 6	EGA639	VPEGCWWAVWGVQCQL LP
274 0	EGA620	LPDGCWWAHWGRECLL PP	275 7	EGA640	LPESCCWTDWGHECFLPP

275 8	EGA641	FPEDCWWSVWGRECLL P	277 5	EGA660	LPEGCWWSNWGRECFM RQ
275 9	EGA642	LSGGCWWAVWGRECLL LP	277 6	EGA661	LPSGCWWAIWGRECLLP P
276 0	EGA643	LPDGCWWSQWGRECILL P	277 7	EGA662	LADGCYWAIWGRECLL P
276 1	EGA644	MPEGCWWAAWGRECIL LP	277 8	EGA663	LPEGCFWTVWGKECLL P
276 2	EGA645	LPEGCYWAVWGRECLL P	277 9	EGA664	LPEGCYWTTWGRECLL P
276 3	EGA646	LPDGCYWAIWGRECILPN	278 0	EGA665	LPDGCWWSTWGRECVLL P
276 4	EGA647	LPEGCWWAIWGRECLL P	278 1	EGA666	MPDNCWWALWGKECFL MP
276 5	EGA648	LPEGCWWATWGRECLL P	278 2	EGA667	LPEGCWWAVWGKECLL LP
276 6	EGA650	LPEGCYWTTWGKECLLR P	278 3	EGA668	DPYGCWWTQWGRECHL LP
276 7	EGA651	LPDGCYWAVWGKECYQI R	278 4	EGA669	LPEGCYWALWGKECLLP P
276 8	EGA652	LPEGCWWSSWGKECFLL P	278 5	EGA670	GPEDCWSTWGRECYL AP
276 9	EGA654	LPEGCWWAHWGKECLL GP	278 6	EGA671	LPEGCIWTTWGKECFLQF
277 0	EGA655	IPDGCWWTWVGRECFH P	278 7	EGA672	LPAGCWWSAWGRECLLT P
277 1	EGA656	LPEGCWWSIWGRECILLP	278 8	EGA674	LNEQCWWAVWGHECLL LP
277 2	EGA657	LPEGCHWTMWGKECFLP P	278 9	EGA675	IPDDCWWAVWGRECLL N
277 3	EGA658	LPEGCWWATWGRECILP P	279 0	EGA676	LPEGCWWSQWGRECILP P
277 4	EGA659	LPEGCWWAPWGKECILP H	279 1	EGA677	LPEGCFWTIWGQECFLP

279 2	EGA678	LPDGCWWSQWGKECILL P	280 9	EGA698	LPSGCWWSTWGRECLLL P
279 3	EGA679	LPEGCWWSTWGRECILL P	281 0	EGA699	LPDGCYWAVWGRECLLL P
279 4	EGA680	LPDGCWWSIWGRECLLA P	281 1	EGA700	LPEACWWATWGRECILL P
279 5	EGA681	VPDGCWWSPWGRECLLP P	281 2	EGA701	LPEGCCWTVWGLECFLC P
279 6	EGA682	VPESCWWAVWGRECLLL P	281 3	EGA702	MPEGCYWAQWGKECLL VP
279 7	EGA683	LPDGCWWAMWGRECIL EP	281 4	EGA703	LPEGCLWMVWGKECFLV P
279 8	EGA684	LPEGCYWTIWGKECFLP P	281 5	EGA704	LPEGCHWAVWGKECQL QP
279 9	EGA685	LPDNCVWMVWGRECLL VS	281 6	EGA705	LPEGCWWAPWGRECILP P
280 0	EGA686	LTEGCWWATWGRECFL P	281 7	EGA706	LPEGCHWEIWGKECFLP P
280 1	EGA687	LPKGCFTVWVGKDCYLL P	281 8	EGA707	LPKGCYWATWGRECLLV P
280 2	EGA688	LPEGCFWAKWGKECYLT Q	281 9	EGA708	LPEGCYWAVWGKECLLR P
280 3	EGA689	LPDGCWWAVWGRECLM LP	282 0	EGA710	IGDACYWTVWGRECLLL P
280 4	EGA693	DSYGCFWTIWGRECLLP P	282 1	EGA711	LPDGCVTVWGRECFGF P
280 5	EGA694	LSDGCWWAVWGRECLIQ K	282 2	EGA712	SPDGCYWALWGRECLLA P
280 6	EGA695	HPEGCWWAVWGKECLL PP	282 3	EGA713	LPQGCWWSVWGKECILR P
280 7	EGA696	LPEGCWWAIWGRECLM QP	282 4	EGA714	LPKGCWWAVWGKECLM QS
280 8	EGA697	SLEGCWWSPWGKECFLP P	282 5	EGA715	LPEGCWWAVWGRECLM LH

282 6	EGA716	LPEGCYWTTWGKECFL P	284 3	EGA735	YAEHCCQFPSDWICTLMS
282 7	EGA717	YAEHCSMFNDWICTLV T	284 4	EGA736	YAEHCRLFPCDWICTLMT
282 8	EGA718	YAEHCWQFPTDWICTLM P	284 5	EGA737	YAEHCWLFPTDWICTLLP
282 9	EGA719	YVEHCWQFPTDWICTLK T	284 6	EGA738	YAEHCWMFPSDWICSLP T
283 0	EGA720	YVDHCWHFPADWICGLS T	284 7	EGA739	YADHCEMFNDWICTLR T
283 1	EGA721	YEEHCRLFPADWICSLQ	284 8	EGA740	YAEHCRMFPNDWICTLIP
283 2	EGA722	YLEHCRHFPTDWICSLP	284 9	EGA741	YAEHCRLFPTDWICTLTT
283 3	EGA723	YLEHCRQFPGDWICTLLE	285 0	EGA742	YAEHCSQFPTDWICTLIT
283 4	EGA724	YAEHCRMFPNDWICSLIT	285 1	EGA743	YEEHCWLFNDWICSLM T
283 5	EGA725	YVEHCCKFPTDWICTLNS	285 2	EGA744	YAEHCQLFPSDWICSLET
283 6	EGA726	YAEHCWLFPTDWICGLR A	285 3	EGA746	YAEHCAQFPTDWICSLIS
283 7	EGA727	YAEHCRLFPTDWICTLLT	285 4	EGA747	YQHCYQFPSDWICSLP
283 8	EGA728	YEEHCWLFPTDWICTLLT	285 5	EGA748	YAEHCRHFWTDWICSLK T
283 9	EGA731	YAEHCWQFPTDWICSLSS	285 6	EGA749	YGEHCRSFPTDWICTLLP
284 0	EGA732	YAAHCWQFPTDWICTLL P	285 7	EGA750	YSTHCRLFPTDWICTLEG
284 1	EGA733	YAEHCSLFPSDWICSLMT	285 8	EGA751	YAEHCWHFPTDWICSLP
284 2	EGA734	YAEHCSQFPCDWICTLLT	285 9	EGA752	YFEHCRQFPTDWICTLMP

286 0	EGA753	YAEHCRLFPTDWICTIKS	287 7	EGA774	YAGHCALFPSDWICSLLP
286 1	EGA755	YVEHCWQFPSDWICTLLP	287 8	EGA775	YAEHCSYFPTDWICTLRT
286 2	EGA757	YAEHCWRFPGDWICSLIT	287 9	EGA776	YLDHCRLFPTDWICSLLP
286 3	EGA758	YAEHCRLFPTDWICSLRE	288 0	EGA777	YVEHCRLFPCDWICSLMI
286 4	EGA759	YAEHC SMFPTDWICTLVT	288 1	EGA779	YAEHCFQFPHDWICSLMT
286 5	EGA760	YLQHCLLFPTDWICTLLP	288 2	EGA780	YQEHCWRFNDWICSLLP
286 6	EGA761	YAEHCTLFPTDWICTLLP	288 3	EGA781	YAEHCRLFPGDWICTLST
286 7	EGA762	YAEHCWMFPTDWICSLR S	288 4	EGA782	YAEHC SMFPSDWICSLMT
286 8	EGA763	YAEHCWLFPKDWICTLIT	288 5	EGA783	YAEHCWHFPTDWICTLR S
286 9	EGA764	YEEHCWQFPGDWICSLR G	288 6	EGA784	YAEHCGLFPGDWICTLK N
287 0	EGA765	YAEHCRIFPTDWICTLST	288 7	EGA785	YAEHCNMFPTDWICTLM E
287 1	EGA766	YAEHCWQFPSDWICSLIE	288 8	EGA786	YAEHCSFFPADWICTLIP
287 2	EGA767	YAEHC SHFWTDWICTLST	288 9	EGA788	YAEHCWMFPTDWICSLN R
287 3	EGA768	YAEHCRQFPSDWICTLLS	289 0	EGA789	YPEHCWQFPGDWICTLLT
287 4	EGA769	YAAHCSLFPTDWICTLMP	289 1	EGA790	YADHCRLFPTDWICTLVT
287 5	EGA770	YAEHCWLFPKDWICTLD M	289 2	EGA791	YAEHCRLFPSDWICSLVT
287 6	EGA773	YAEHCLQFPADWICTLRT	289 3	EGA792	YAEHCRQFPADWICTLM T

289 4	EGA793	YSEHCWMFPSDWICTLM E	291 1	EGA814	LPDGCWWAQWGRECLL KP
289 5	EGA795	YAEHCSQFPTDWICTLLT	291 2	EGA815	LPAPCYWTTWGKECFIVP
289 6	EGA796	LAEHCYLFPCDWICSLLT	291 3	EGA816	LIAPCYWTIWGKECFILD
289 7	EGA798	YAEHCWQFPADWICTLL P	291 4	EGA817	HPDNCWWAVWGRECLL LP
289 8	EGA799	YREHCSLFPNDWICTLMP	291 5	EGA818	LSDPCYWTTWGKECFLL R
289 9	EGA801	YAEHCSLFPTDWICSLMP	291 6	EGA819	LTAPCYWTTWGKECLLL R
290 0	EGA802	YEEHCWLFPSDWICSLRQ	291 7	EGA820	LAEGCIWTTWGRECFLLP
290 1	EGA804	LPEPCWWAPWGRECLLL P	291 8	EGA821	LPDGCYWTVWGRECFLP P
290 2	EGA805	LPQGCWWAVWGKECHL LP	291 9	EGA822	LRDPCWWAVWGRECILL P
290 3	EGA806	LYDTCYWTTWGKECLM PR	292 0	EGA823	QSPGCWWAVWGVECILL P
290 4	EGA807	LPDGCTWMVWGRECFLL P	292 1	EGA824	IHEGCWWSSWGKECLLL P
290 5	EGA808	LPGGCWWAVWGRECQL LP	292 2	EGA825	LPEGCWWATWGRECLLE P
290 6	EGA809	HPDDCWWALWGRECLL LP	292 3	EGA826	LPAGCYWANWGKECFL VP
290 7	EGA810	KCNFNPWKAACG	292 4	EGA828	LTDPCYWTTWGKECLLH R
290 8	EGA811	LPEGCWWALWGRECLLL P	292 5	EGA830	LPEGCWWAPWGKECLLS P
290 9	EGA812	LLDACWWATWGKECIW RN	292 6	EGA831	LPAPCYWTTWGKECLMP R
291 0	EGA813	LYYVCWWNMWGYECLP YE	292 7	EGA832	LPDGCYWSMWGRECFV P

292 8	EGA833	VPQGCYWATWGRECYL LP	294 5	EGA852	LPEDCWWAIWGRECLLT P
292 9	EGA834	LPDSCWWSTWGRECILLP	294 6	EGA853	LPEPCYWTTWGKECFMI H
293 0	EGA835	LPAPCYWTTWGKECLLQ H	294 7	EGA854	LPQGCYWAVWGRECLLL P
293 1	EGA836	LQEGCFWAVWGKECILL P	294 8	EGA855	LPAGCWWSLWGKECYL LP
293 2	EGA837	LNEHCYWALWGKECFLP R	294 9	EGA856	LPEECWWAIWGRECHLL P
293 3	EGA838	LPEGCWWSPWGRECLLL P	295 0	EGA857	LPAGCWWSVWGRECLL MP
293 4	EGA840	LPEGCFWTVWGKECLLM P	295 1	EGA858	MPEGCFWAIWGRECFLL P
293 5	EGA841	LPDGCYWTTWGKECFMP R	295 2	EGA859	LPDPCWWAPWGRECVL MP
293 6	EGA842	LPEGCWWSPWGKECLL MP	295 3	EGA860	IPDGCYWAIWGRECFLLP
293 7	EGA843	LTPPCYWTIWGKECFMR Q	295 4	EGA861	LPAPCYWTTWGKECFLL R
293 8	EGA844	LPEGCYWSVWGKECLLE S	295 5	EGA862	LTDSCYWTTWGRECFLIP
293 9	EGA846	LTDQCYWATWGRECILL R	295 6	EGA863	IHDPCYWTVWGRECLL P
294 0	EGA847	FPDGCYWAIWGRECLLQ P	295 7	EGA864	LPEGCWWSAWGRECILL Q
294 1	EGA848	LSGGCYWTTWGRECILLP	295 8	EGA865	LMGDCWWTWVGKECLL QP
294 2	EGA849	LSSPCYWTTWGKECFIIR	295 9	EGA868	VPDSCWWSQWGRECLLP P
294 3	EGA850	FPEGCWWALWGKECFLQ P	296 0	EGA869	LPEGCWWSVWGKECLM LP
294 4	EGA851	LPDGCWWSVWGRECLM LP	296 1	EGA870	LATPCYWTTWGKECLIPR

296 2	EGA871	LLGCSWHFWVYECLPP P	297 9	EGA890	YADHCRLFPNDWICTLIT
296 3	EGA872	INPPCYWTTWGKECFLH R	298 0	EGA891	YAQHCYLFPMDWICTLT
296 4	EGA873	LPEGCWWTQWGKECHL AP	298 1	EGA892	YSEHCWQFPDDWICTLM T
296 5	EGA874	FPAGCYWAHWGRECLL P	298 2	EGA893	YAEHCRVFPDWDICTLRP
296 6	EGA875	LPEGCWWSIWGKECLL P	298 3	EGA894	YGQHCSLFPTDWICSLMT
296 7	EGA876	LPEGCYWAIWGKECHMT P	298 4	EGA895	YAEHCRQFRDWDICTLM T
296 8	EGA878	IPEGCWWQPWALECFL P	298 5	EGA896	YAEHCLTFPTDWICSLAQ
296 9	EGA879	IAEGCWWSIWGKECFLP	298 6	EGA897	YAGHCRDFPSDWICSLVP
297 0	EGA880	LPEPCYWTTWGKECHLP N	298 7	EGA898	YAEHCWYFPTDWICTLT
297 1	EGA881	LPPRCLWNPWGPECFLIH	298 8	EGA899	YQEHWCWFPTDWICSLTS
297 2	EGA882	LTAPCWWTWSGRECYLF G	298 9	EGA900	YADHCCHFPADWICTLN A
297 3	EGA883	RPDSCYWTTWGRECLWP R	299 0	EGA901	YAEHCWLFPTDWICSLM P
297 4	EGA884	LPERCWWAIWGRECILLP	299 1	EGA902	YADHCLQFPLDWICTLM K
297 5	EGA885	ISQGCWWSKWGRECLLP P	299 2	EGA903	YAEHCTQFPTDWICTLTS
297 6	EGA886	IPHGCWWAIWGRECLL P	299 3	EGA904	YAEHCRQFPSDWICTLMT
297 7	EGA888	YPEHCWWFPSDWICTLM T	299 4	EGA905	YSEHCYLFPTDWICTLPT
297 8	EGA889	YAEHCWRFPSDWICTLM T	299 5	EGA906	YVDHCWDFPTDWICTLL S

299 6	EGA907	YIEHCWQFPTDWICTLMT	301 3	EGA927	YTEHCWLFPTDWICSLMP
299 7	EGA908	YADHCRFFPTDWICTLMP	301 4	EGA929	YEQHCWHFPTDWICTLM T
299 8	EGA909	YAQHCMQFPTDWICTLM T	301 5	EGA930	YAEHCWLFPTDWICTLM T
299 9	EGA910	YADHCWQFPTDWICTLL A	301 6	EGA931	YYEHCTLFPTDWICTLMT
300 0	EGA911	YARHCMQFPTDWICSLTT	301 7	EGA932	YEEHCALFPTDWICTLH
300 1	EGA912	YAEHCWQFPTDWICTLR S	301 8	EGA933	YGEHCWQFPTDWICTLV T
300 2	EGA913	YEDHCSLFPKDWICGLMP	301 9	EGA934	YSEHCWLFPTDWICSLDT
300 3	EGA914	YAEHCWQFPTDWICTLLP	302 0	EGA935	YDEHCRQFPTDWICKLTT
300 4	EGA915	YEEHCQLFPTDWICTIRT	302 1	EGA936	YAEHCYRFPTDWICTLMS
300 5	EGA916	YAEHCWLFPTDWICSLM T	302 2	EGA937	YAGHCSRPTDWICTLM A
300 6	EGA918	YAEHCWQFPTDWICTLM S	302 3	EGA938	YAQHCWQFPADWICTLIE
300 7	EGA919	YAEHCRQFPTDWICGLM T	302 4	EGA939	YDEHCLKFPADWICSLPR
300 8	EGA920	YADHCSQFPTDWICTLIP	302 5	EGA940	YAGHCNLFPTDWICTLKT
300 9	EGA921	YSEHCWLFPTDWICTLVP	302 6	EGA941	YEEHCGLFPTDWICTLMD
301 0	EGA922	YAAHCWQFPTDWICTLIP	302 7	EGA942	YSEHCWLFPTDWICTLPT
301 1	EGA924	YAEHCWLFPTDWICTLM P	302 8	EGA944	YAEHCWMFPTDWICSL P
301 2	EGA925	YAEHCYMFPTDWICTLT A	302 9	EGA945	YAEHCWQFPTDWICTLLP

303 0	EGA946	YAEHCWRFPTDWICTLM T	304 7	EGA964	YAEHCWQFPADWICSLPS
303 1	EGA947	YTSHCRHFNDWICTLLP	304 8	EGA965	YAEHCWQFPTDWICSLLD
303 2	EGA948	YAEHCWQFPHDWICTLT K	304 9	EGA966	YAQHCWMFPADWICTL MT
303 3	EGA949	YADHCWLFNDWICTLIK	305 0	EGA967	YLAHCWHFNDWICSLLP
303 4	EGA950	YAEHCWLFPTDWICTLRT	305 1	EGA968	YTKHCQRLPTYKICNLFM
303 5	EGA951	FQGHICALFPTDWICTLKS	305 2	EGA969	YSEHCWLFPTDWICHLM P
303 6	EGA952	YAEHCRLFPADWICSLMT	305 3	EGA970	YAEHCYNFSPDWICSLLT
303 7	EGA953	YAEHCGLFPTDWICTLMT	305 4	EGA971	YAEHCWQFPTDWICSLM T
303 8	EGA954	YREHCGQFPNDWICSLLT	305 5	EGA972	YEEHCWQFPADWICTLL T
303 9	EGA955	YVEHCYQFPADWICTLK T	305 6	EGA973	YAEHCWHFSPDWICTLK E
304 0	EGA956	YAEHCRHFPSDWICTLTK	305 7	EGA974	YAMHCSQFSPDWICTLM T
304 1	EGA957	YAEHCSQFPTDWICSLLT	305 8	EGA975	YAEHCRQFPTDWICSLMT
304 2	EGA959	YAVHCWQFPADWICSLE M	305 9	EGA976	YEEHCWLFPSDWICTLMP
304 3	EGA960	YEEHCLQFPADWICTLLP	306 0	EGA977	YAEHCWLFPTDWICNLIP
304 4	EGA961	YAEHCGMFPNDWICSLT K	306 1	EGA978	YEKHCYQFSPDWICSLKT
304 5	EGA962	YADHCAHFPTDWICTLM T	306 2	EGA979	LPDGCCWLQWGMECHL CP
304 6	EGA963	YPEHCWLFPTDWICTLVA	306 3	EGA980	IPDDCYWTVWGRECLLV P

306 4	EGA981	LTDGCYWTIWGRECLL P	308 1	EGA100 1	HPDGCYWTVWGRECLLP P
306 5	EGA982	LPDGCWWSTWGRECLLV P	308 2	EGA100 2	YSEVCWWEVWGRECF RS
306 6	EGA984	LPEGCYWAIWGKECLLP L	308 3	EGA100 3	LPEDCWWAQWGRECF A
306 7	EGA985	DPYGCYWAAWGRECLL LP	308 4	EGA100 4	LNDPCYWTTWGKECLLP R
306 8	EGA986	LPEGCWWSVWGRECLLP S	308 5	EGA100 5	YEEHCGQFPTDWICTLIS
306 9	EGA987	LPEDCWWATWGRECLL QP	308 6	EGA100 6	YEEHCWLFPSDWICTLM T
307 0	EGA988	LPEGCHWAIWGRECLLP P	308 7	EGA100 7	YEEHCWLFPTDWICTLVT
307 1	EGA989	LPEGCWWANWGRECLL LP	308 8	EGA100 8	YAEHCWLFPSDWICTLLT
307 2	EGA991	IPEGCWWAQWGRECILA A	308 9	EGA100 9	YAEHCCRFPDWICTLMS GQAAAGGSQAQICRLPS DRVCTLMP
307 3	EGA992	ISDGCFWAVWGRECLLA A	309 0	EGA101 0	PESWCHTLYWNLQHCLS QE
307 4	EGA993	GTDGCWWEVWGRECLL TP	309 1	EGA101 1	LPEGCYWATWGKECLLQ P
307 5	EGA994	LPEGCWWSPWGRECLLP P			
307 6	EGA995	LTEPCYWTTWGKECHMP R			
307 7	EGA996	DEAGCWWWEIWGRECILS P			
307 8	EGA997	IHDHCCWTIWGYECQLC P			
307 9	EGA998	LHDGCWWEVWGRECFV PS			
308 0	EGA999	FPDVCYWTVWGRECLL P			

Таблица 18
Связывающие ErbB2 домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикации онный номер	Пептидная последовательность	312	EGB13	ICSRWPYWPHCWGQARQ
			6	3	AAGGGSNCSHEPGSVVCL
311	EGB98	LCFAHQAMFCN	312	EGB13	WCRYYSVVCS
			7	4	
311	EGB10	TCHPSWGGKTCT	312	EGB13	ICWIGTFGCA
			8	7	
311	EGB10	ICVAMTVTCS	312	EGB22	PPYRCIPSESWICSFILGQA
			9	1	
311	EGB10	ICVAMTVTCS	313	EGB22	QGGGCRGPHWYQMFCYCV
			0	2	SPS
311	EGB11	FCIHFPHSWVCH	313	EGB22	LVSFCPWGPDWYCSHYH
			1	4	
311	EGB11	FCIHFPHSWVCH	313	EGB22	PPRWWCEHYGVQDLMCP
			2	5	GLF
311	EGB12	WCHLFPYSQWCH	313	EGB22	SVFDCKYAPMWYCKHYL
			3	7	
311	EGB12	ICKYFPFSHFCW	313	EGB24	GSLGCVLPMVFCRSYQ
			4	9	
311	EGB12	WDHWHIWHFG	313	EGB26	YGKVLCSKWQCCKLLR
			5	3	
312	EGB12	LCETQPVSFSCSGQACPGG	313	EGB26	FCHLCQMFPAWCFLQT
			6	4	
312	EGB12	WCHFQIWHHPCY	313	EGB28	RWVHCKQHGHYFSQRCIE
			7	9	TW
312	EGB12	FCQFFPWTMVCQ	313	EGB31	PRRWCHMDFFFHSPMCHW
			8	0	HL
312	EGB13	MPWEYLHQHQ	313	EGB31	HTRKCHKFMFQHKHCIEV
			9	5	L
312	EGB13	HCNWAPWWGYCMGQAG	314	EGB33	MVVPCFTSQRQMAPACIA
			0	4	PRGQAGQGGPGCGRWLP
312	EGB13	QGRCTAGGSGSHCYWPPPN			RQRCFIKHGHMSESCMVS
					A
312	EGB13	PCVFVIEGCF	314	EGB33	YGKKCDKHDHSPKPGVCIK

314 2	EGB33 9	LLFDCWRIPEWHACGKDY	315 9	EGB38 8	WSGWCFFEEAGWGHCMG LP
314 3	EGB34 4	WNRICMYQWANHFTVCA PGP	316 0	EGB38 9	WSGYCFDRGYWQCSSA W
314 4	EGB35 0	ERALCHKPWSHIMPWCPQ KL	316 1	EGB39 1	WSGYCYVFDHWESCRGR E
314 5	EGB35 4	WKPWCKLYWRADPACLQ IK	316 2	EGB39 2	WSGWCFFEAGWGHCMG LP
314 6	EGB35 6	WSGWCMTYTWGWAPCRS VD	316 3	EGB39 3	WSGCCHWEAAWNNCGG WT
314 7	EGB35 8	WSGWCVKQNAWYFCTG KI	316 4	EGB39 4	WSGWCNISNQWRHCGSP D
314 8	EGB36 4	VAQSSAFCEEFPVHWYCS FYVG	316 5	EGB39 5	WTGWCEGHGQGWCHS SL
314 9	EGB36 6	VAQSTPSCGMPKWYCIHY FG	316 6	EGB39 6	WVVSCHTSTQVLMCVCL L
315 0	EGB36 7	VAQSSEHCYFGWNSYHC WSQAG	316 7	EGB39 8	WSGYCNSNGAWMMCGG GT
315 1	EGB37 3	VAQREKHCVPWEYCKHY M	316 8	EGB39 9	WSGWCFEQAGWGHCLGL P
315 2	EGB37 5	WSGWCWSDESKYWYSCH SRA	316 9	EGB40 0	WSGWCQSHGEWMRCRS WT
315 3	EGB38 0	WSGLCLWDMFWQQCHGS S	317 0	EGB40 1	WSGWCEEQFGWSQCRRS P
315 4	EGB38 3	SVLGCDDVGFYQCLEFLG QA	317 1	EGB40 3	WSGWCFFETHWQHCMG LR
315 5	EGB38 4	WSGWCQFKDGQWAKCT GRV	317 2	EGB40 4	WTGFCFDENHWYICGTGR
315 6	EGB38 5	WSGYCFDSTHEGWYQCG AVS	317 3	EGB40 6	WRGWCQIAGEWQHCSNY S
315 7	EGB38 6	WSGWCFHETHWQHCSAG G	317 4	EGB40 7	WTGYCVDQERHQWHQCF GRS
315 8	EGB38 7	WTGWCLVENQWTYCQN GD	317 5	EGB40 8	WQGYCYQEVYALWDHCS GPL

317 6	EGB40 9	WSGWCFAMEHQKWKQC AGSS	319 3	EGB43 1	WTGYCLSSERHKWHHCF GRS
317 7	EGB41 0	GSMLCLWFNDNPQCFEVC	319 4	EGB43 2	WSGWCFQFDNWDRCPGS V
317 8	EGB41 1	WSGWCETPHQWHDCKGT I	319 5	EGB43 3	WSGYCQMKDHWAHCGH SE
317 9	EGB41 2	MIEFCWYYMALPECWIPT	319 6	EGB43 5	WSGWCLFADGWGH CYG VI
318 0	EGB41 3	IIEFCWYLQQYDECWVPK	319 7	EGB43 6	WSGWCFIKTHWGH CYGQ I
318 1	EGB41 4	WSGYCYEGVTWRSCWGD M	319 8	EGB43 7	WSGWCFYVDHWDYCGG LI
318 2	EGB41 6	WSGWCFQFDNWDHCTGS V	319 9	EGB43 8	WSGYCEGTDHWYHCGGS M
318 3	EGB41 9	SFTLTCAHQCLCHVL	320 0	EGB43 9	WSGWCFYGDRWGHCSGL P
318 4	EGB42 0	WSGWCQHMQVPIWHACS GGL	320 1	EGB44 0	WSGWCFYGSYWGHCCKGI L
318 5	EGB42 1	WSGLCLTEEVWHVCQGTI	320 2	EGB44 1	WSGYCEFEDHWDYCGTP K
318 6	EGB42 3	WTGFCQSSKTQKWQHCR GGG	320 3	EGB44 2	WSGWCLMETGWGHCKG LP
318 7	EGB42 5	WSGWCEEELQWSFCSGH L	320 4	EGB44 4	WSGWCF SADGWGHCRGV I
318 8	EGB42 6	WSGYCVD FEFPAGYCH GNI	320 5	EGB44 5	WSGYCDMGDHW SHCGHS G
318 9	EGB42 7	WSGWCYSQALMSWTYCH EFK	320 6	EGB44 6	WSGWCFYGSWWDYCSG GH
319 0	EGB42 8	WSGWCFYQVEYIWR SCEP AS	320 7	EGB44 7	WSGYCEFEDHWD FCGTSR
319 1	EGB42 9	NRSGCIEIHYEDCLLIV	320 8	EGB44 8	WSGYCEYQDRWAHCGGT PGQAGQGGGSWSGYCRT EGHWAHCGGSV
319 2	EGB43 0	WTGWCYMEHFWDICHGP A			

320 9	EGB45 0	WSGWCLGEAGWGHCRGL L	322 6	EGB47 3	WSGYCEFKDHWDYCGGS E
321 0	EGB45 1	WSGWCLYESGWGH CYG WI	322 7	EGB47 4	WSGWCFYGTGWGYCYGL I
321 1	EGB45 2	WSGYCEYKYKWDHCGTS V	322 8	EGB47 6	WSGYCEYKHHWAHCGTR H
321 2	EGB45 3	WSGYCEFKDHWAHCGGS L	322 9	EGB47 7	WSGYCLMKDHWAHCGH SE
321 3	EGB45 5	WSGWCLGETGWGHCSG MP	323 0	EGB47 8	WSGWCMGMSGWDHCRG LI
321 4	EGB45 6	WSGYCEFKDHWAHCGGS V	323 1	EGB47 9	WSGYCEINGKWDYCSHS H
321 5	EGB45 8	WSGYCEFQDHWGYCGNT E	323 2	EGB48 0	WSGWCFFGAGWGHCFGN P
321 6	EGB45 9	WSGYCEFKDYWAHCSGS M	323 3	EGB48 1	WSGWCLQGAGWGHCSG RI
321 7	EGB46 0	WSGYCEYSDHWAHCGGS L	323 4	EGB48 2	WSGWCFNGVGWGHCFGL I
321 8	EGB46 2	WSGWCLYDAGWGYCSGL Q	323 5	EGB48 3	WSGWCFYEAFWGHCTGP T
321 9	EGB46 3	WSGYCEMQDHWYCSGS I	323 6	EGB48 4	WSGWCFDGDGWGYCTG VS
322 0	EGB46 4	WSGWCFTEGVWGHCKGL G	323 7	EGB48 5	WSGWCLRSNGWDYCHGP T
322 1	EGB46 5	WSGYCEFKDHWDFCGHS A	323 8	EGB48 6	WSGWCLSGAGWGYCSGL P
322 2	EGB46 9	WSGWCFLD SGWGH CQGL I	323 9	EGB48 7	WSGWCFFGSAWGHCHGF P
322 3	EGB47 0	WSGWCFNSNGWYQCGL I	324 0	EGB48 8	WSGWCFYSTHWAQCKGG H
322 4	EGB47 1	WSGWCFFGASWGHCSGF P	324 1	EGB48 9	WSGWCETDRGWSFCSSPL L
322 5	EGB47 2	WSGWCFFGAGWDYCHG QP	324 2	EGB49 0	WSGWCESELQWGFC SGL L

324 3	EGB49 1	WSGWCEGETQWYFCSGH L	326 0	EGB50 8	WSGWCFFGSHWGHCFGS P
324 4	EGB49 2	WSGWCEYELQWSFCSGQ L	326 1	EGB50 9	WSGWCLLDAEWGHCSGL I
324 5	EGB49 3	WSGWCEGEREWFFCSGHI	326 2	EGB51 0	WSGWCLSNDGWGHCWG LM
324 6	EGB49 4	WSGWCEYEHHDWDFCSGH L	326 3	EGB51 1	WSGWCLSGTGWGHGYGL H
324 7	EGB49 5	LPPPCYWTTWGKEQMF D	326 4	EGB51 3	WSGWCLVGTQWSFCSGLI
324 8	EGB49 6	WSGWCFSSSGWGFCGGL N	326 5	EGB51 4	WSGWCEKEFLWTFCSGTI
324 9	EGB49 7	WSGWCFSPAGWGHGYGL S	326 6	EGB51 5	WSGWCESDTHWSFCSGQ L
325 0	EGB49 8	WSGWCLDRAGWGHCHG LI	326 7	EGB51 6	WSGWCEGVSEWSFCSGLI
325 1	EGB49 9	WSGWCLTKSGWGHCLGP T	326 8	EGB51 8	WSGWCLGLDGDWDHCY RP
325 2	EGB50 0	WSGWCLYEFGWGYCSGL I	326 9	EGB51 9	WSGWCFFGDRWGHCHGQ P
325 3	EGB50 1	WSGWCEYELHWSYCWGP L	327 0	EGB52 0	WSGWCFVGASWGHGYG MI
325 4	EGB50 2	WSGWCEGELYWSYCSGY L	327 1	EGB52 1	WSGWCLSDAGWGACGG AS
325 5	EGB50 3	WSGWCEYELSWSFCSGSL	327 2	EGB52 2	WSGWCLEWNGWGHCSGI P
325 6	EGB50 4	WSGWCEYEGFWSFCSGN L	327 3	EGB52 3	WSGWCEGELQWFFCSGTI
325 7	EGB50 5	WSGWCEGVQLQWYFCSGH I	327 4	EGB52 4	WSGWCEGEHHWYFCRGN F
325 8	EGB50 6	WSGWCEYDLHWSFCSGH L	327 5	EGB52 6	WSGYCEGEQQWFYCSGQ V
325 9	EGB50 7	WSGWCLGKAGWGHC GG LI	327 6	EGB52 7	WSGWCEKVGWSFCSGH I

327 7	EGB52 8	WSGWCEGERTWHFCSGP L	329 4	EGB54 8	WSGWCEGERQWSFCSGSI
327 8	EGB53 0	WSGWCCFGTSGWGYCHGP P	329 5	EGB54 9	WSGWCEYEFKWSFCSGHI
327 9	EGB53 1	WSGWCLLDAGWGHCKG ML	329 6	EGB55 0	WSGWCEHEMYWSYCSGH K
328 0	EGB53 2	WSGWCFYGHGWGHCHG TP	329 7	EGB55 1	WSGWCEGELRWFFCSGTL
328 1	EGB53 3	WSGWCFDYTRWGHCSG MP	329 8	EGB55 3	WSGWCFYGTHWGHCGGL P
328 2	EGB53 4	WSGWCLFSAGWGHCSGLI	329 9	EGB55 4	WSGWCFDGGRWGYCSGP L
328 3	EGB53 5	WSGWCEGELQWSFCWGH I	330 0	EGB55 5	WSGWCLKGDGWGHCWG LI
328 4	EGB53 7	WSGWCEEEHQWSFCSGYI	330 1	EGB55 6	WSGWCLRVSGWDHCSGH P
328 5	EGB53 8	WSGWCEGEREWYFCSGF F	330 2	EGB55 7	TDSWCHTLYWALQHCVA QE
328 6	EGB53 9	WSGWCEGKLKWNYSYSGY L	330 3	EGB55 8	WSGWCLMGDSWGHCSGL I
328 7	EGB54 0	WSGWCEQDQKWNYSYSG YI	330 4	EGB55 9	WSGWCEGEVGVFFCSGY L
328 8	EGB54 2	WSGWCFYEVVRWGHCHGS I	330 5	EGB56 0	WSGWCEYELQWSFCFGPS
328 9	EGB54 3	WSGYCLSESGWGHCGGL L	330 6	EGB56 1	PDSSCHTLYWQLHHCARR E
329 0	EGB54 4	WSGWCLSYSGWGHCSGS P	330 7	EGB56 2	WSGWCEGDLQWYYCSGH I
329 1	EGB54 5	WSGWCFYGDYWGHCSCG QP	330 8	EGB56 3	WSGWCEEALRWSYCSGHI
329 2	EGB54 6	WSGWCFKITGWGHCSGLI	330 9	EGB56 5	WSGWCLGDAGWGHCGG LP
329 3	EGB54 7	WSGWCENELQWSFCSGHI	331 0	EGB56 6	WSGWCFDTHWGHCSGL L

331	EGB56	WSGWCFNHGAWGHCRG	332	EGB58	WSGWCETYKGWHACHG
1	7	LI	8	6	KI
331	EGB56	WSGWCYEHTGWRHCHGL	332	EGB58	WSGWCETNAGWIQCYGSI
2	8	I	9	7	
331	EGB56	WSGWCLTREGWGHCKGL	333	EGB58	WSGWCQTGANWHYCNG
3	9	I	0	8	TI
331	EGB57	WSGWCLSGVGWFHCKG	333	EGB58	WSGWCLADGMWGHCCNG
4	0	MI	1	9	TI
331	EGB57	WSGWCEGESQWFFCSGLI	333	EGB59	WSGWCEGRDAWYQCKG
5	1		2	0	TI
331	EGB57	WSGWCEYESHWSFCSGHI	333	EGB59	WSGYCLTDGTWHHCKGT
6	2		3	1	I
331	EGB57	WSGWCEGERKWSYCSGQ	333	EGB59	WSGWCKTGKKWHHCNG
7	3	I	4	2	TI
331	EGB57	WSGWCEGELHWYSCSGH	333	EGB59	WSGWCETSSGWHQCSGII
8	4	M	5	3	
331	EGB57	PDSWCHTLYWDLLYCVN	333	EGB59	WSGWCEEKGQWVSCGGS
9	5	QE	6	5	L
332	EGB57	WSGWCETPCGWESCHGTI	333	EGB59	WSGWCEGELQWYFCSGH
0	7		7	6	L
332	EGB57	WSGWCESTDSWHFCRNGI	333	EGB59	WSGWCEGEHKWSFCSGH
1	9		8	7	L
332	EGB58	WSGWCETPSGWKACRGN	333	EGB59	WSGWCESDKGWYQCRGT
2	0	I	9	8	I
332	EGB58	WSGWCETGVGWHECHGT	334	EGB59	YEEHCRLFPADWICSLQ
3	1	I	0	9	
332	EGB58	WSGWCEAERQWTFCSGHI	334	EGB60	WSGWCETPGHWYQCRGS
4	2		1	0	I
332	EGB58	WSGWCENSEGWDFCNGT	334	EGB60	ADSWCHTLYWNLRHCEIQ
5	3	I	2	1	E
332	EGB58	WSGWCETQKGWHSCHGS	334	EGB60	WSGWCNSGGGWHQCRG
6	4	I	3	2	TI
332	EGB58	WSGWCLTGTDWHFRCRGI	334	EGB60	WSGWCLTDNKWHSCIGTI
7	5		4	3	

334	EGB60	WSGWCETDRGWHDCGT	336	EGB62	WSGWCEYNGYWDYCTG
5	4	I	2	2	TI
334	EGB60	WSGWCETKDHWHACNGI	336	EGB62	WSGWCETGKYWHYCSGT
6	5	I	3	3	I
334	EGB60	WSGWCEGELQWYFCSGK	336	EGB62	WSGWCEGKHQWYFCSGN
7	6	I	4	4	L
334	EGB60	PESWCHTLYWNLQHCLSQ	336	EGB62	WSGWCETELGWHQCRGT
8	7	E	5	5	I
334	EGB60	WSGWCETSGGWHYCKGT	336	EGB62	WSGWCEGQTKWYFCSGQ
9	9	I	6	6	I
335	EGB61	WSGWCETDQGWHHCWG	336	EGB62	WSGWCLFDSKWDYCQGN
0	0	TI	7	7	I
335	EGB61	WSGWCETKFGWNYCKGS	336	EGB62	ANSWCHTLYWDLMYCV
1	1	I	8	8	WQE
335	EGB61	WSGWCFATSGWHSCRGT	336	EGB62	WSGWCQTGMRWHQCYG
2	2	A	9	9	TI
335	EGB61	WSGWCETGNGWDRCWG	337	EGB63	WSGWCESNGTWHGCKGT
3	3	NI	0	0	I
335	EGB61	WSGWCEGQLQWFFCSGQI	337	EGB63	WSGWCEGKHGWYSCRGT
4	4		1	1	I
335	EGB61	WSGWCERSWGWEQCRGT	337	EGB63	WSGWCETLSGWHQCHGV
5	5	I	2	2	I
335	EGB61	WSGWCEYEEKWAFCSGY	337	EGB63	WSGWCEGKEKWHHCNGS
6	6	I	3	3	I
335	EGB61	WSGYCEGELQWYFCTGH	337	EGB63	WSGWCETSEGWHSCYGS
7	7	L	4	4	
335	EGB61	WSGWCETSVGWHKCSGT	337	EGB63	WSGWCLNELGWQQCFGT
8	8	I	5	5	I
335	EGB61	WSGWCRIETGWDFCSGTI	337	EGB63	WSGWCERVSGWNYCHGT
9	9		6	6	I
336	EGB62	WSGWCETSKGWHFCSGTI	337	EGB63	WSGWCYAPTGWHHCVGT
0	0		7	8	I
336	EGB62	WSGWCESSHGWHGCKGII	337	EGB63	WSGWCETGTGWYHCGGT
1	1		8	9	I

337	EGB64	PDSWCHTLYWHLQHCLS	339	EGB65	WSGWCETLNGWYGCHGT
9	0	QE	6	7	M
338	EGB64	WSGWCEYELRWDFCSGHI	339	EGB65	WSGWCENNDGWHHCHG
0	1		7	8	SI
338	EGB64	WSGWCETVNGWHQCTGT	339	EGB65	WSGYCETGRGWHMCQGT
1	2	I	8	9	I
338	EGB64	WSGWCLTKNSWDFCSGTI	339	EGB66	WSGWCETVTGWDYCNG
2	3		9	0	KI
338	EGB64	WSGWCLTNGVWHGCRGI	340	EGB66	WSGWCETDEGWRQCSGT
3	4	I	0	1	I
338	EGB64	WSGFCLTEESWHHCTGPI	340	EGB66	WSGWCMTLDKWHQCYG
4	5		1	2	TI
338	EGB64	WSGWCEAIDMWYQCHGP	340	EGB66	WSGWCETNNGWYACWG
5	6	I	2	3	MI
338	EGB64	WSGWCFTGDLWHACTGII	340	EGB66	WSGWCNEAGWGHYCYGL
6	7		3	4	P
338	EGB64	WSGWCEGELQWYYCSGK	340	EGB66	WSGWCETDRGWHECHGT
7	8	I	4	5	I
338	EGB64	WSGWCEGEFQWYFCSGQ	340	EGB66	WSGWCETKFGWSYCKGT
8	9	F	5	6	I
338	EGB65	WSGWCETNGKWDFCQGT	340	EGB66	WSGWCEGEDGWHSCRGT
9	0	I	6	8	I
339	EGB65	WSGWCETPVGWEQCTGTI	340	EGB66	WSGWCETSKGWHFCSGII
0	1		7	9	
339	EGB65	WSGWCEGKLHWYFCSGH	340	EGB67	PKYSCVYSIMKEKWHCRA
1	2	M	8	0	QT
339	EGB65	WSGWCEGALGWSSCSGH	340	EGB67	FKPHCVYKHQTVVCGPP
2	3	G	9	3	A
339	EGB65	YEEHCALFPTDWICTLH	341	EGB67	THMHYQHKHHYHCRTS
3	4		0	5	L
339	EGB65	WSGWCEGIGAWHFCKGII	341	EGB68	GPELCHHMAGHEWCLRY
4	5		1	6	Y
339	EGB65	WSGWCESNDGWYQCKG	341	EGB69	HRSKCFMMYWDENCLQP
5	6	DI	2	2	W

341 3	EGB69 3	LGGRCLFALKQCSMGH	343 0	EGB73 9	VDRVCQFFMQKCWSSP
341 4	EGB69 6	WSRLCTMRLPSTCGVWE	343 1	EGB74 0	KWTRCIPRMETHHTCDCLL
341 5	EGB69 7	RSWHCSHQMGSKPHCVLS P	343 2	EGB74 6	KLPQCLWEWDNRDCRWL L
341 6	EGB69 8	TWFRCTPHKHHYHCKHN V	343 3	EGB74 8	LHRFCDHFAIQCRCFN
341 7	EGB70 5	GIWICRHDSPYMKPHCIFT S	343 4	EGB75 8	LICKQHKNHWHCRNYY
341 8	EGB70 7	TWSKCFMVPLGDYCTRAL	343 5	EGB76 3	KPWKCFYSYKIQHWKCH GVS
341 9	EGB70 8	SVWKCVKHPFKIKPLCKL ES	343 6	EGB77 0	TDSWCHTLYWQLHHCAIL E
342 0	EGB71 0	RTWFCEKMHGQKFHCVS WF	343 7	EGB77 1	KWRCCYGQFQQACNAVS
342 1	EGB71 2	ADSWCHTLFWQLQHCVW QE	343 8	EGB77 8	WTHACVVWNMKQMEAC TSLT
342 2	EGB71 4	KWRCCYGQFQPACNAVS	343 9	EGB77 9	LLNQCLQWAFHNCGCWN
342 3	EGB71 6	PRYKCVFNWEVQKWQCS VWS	344 0	EGB78 0	WSGYCELKDRWAYCSGSI
342 4	EGB72 2	PNRYCYTYPHSVKCAWM Y	344 1	EGB78 1	HRAPCFSTACRQPCFSLT
342 5	EGB72 3	DPSRCSKAYQMLYQCRTL I	344 2	EGB78 5	WSGYCEMKGYWAHCTGL I
342 6	EGB72 9	STDLCWPHKKHWHCPPA N	344 3	EGB78 6	WSGYCEFLDHDHDCSGG E
342 7	EGB73 0	SAWYCTKHMPQSKYHCIS MR	344 4	EGB78 7	WSGYCEYKDHDHDCGSS V
342 8	EGB73 2	KWWKCGVIFEICQIVP	344 5	EGB78 8	WSGYCEYKDHDWDYCGSS V
342 9	EGB73 8	AQLKCFEKLVMCRHHL	344 6	EGB78 9	WSGYCEYKDHDWDFCGNV D

344	EGB79	WSGYCEYRDHWAHCGGS	346	EGB81	WSGYCEKEGYWAHCRGT
7	1	L	4	6	I
344	EGB79	WSGYCEFEGYWAHCGGSI	346	EGB81	WSGYCEMKGHWAHCGG
8	2		5	7	SP
344	EGB79	WSGYCEYIDHWGYCQGS	346	EGB81	WSGYCNMGDHDHDCSGS
9	5		6	8	I
345	EGB79	WSGYCEMNDHWDYCYG	346	EGB82	WSGYCEFKDHWAHCSGS
0	6	SI	7	0	L
345	EGB79	WSGYCEYKDHWGYCGGS	346	EGB82	WSGYCEMKGYWDFCGGL
1	8	I	8	2	I
345	EGB79	WSGYCQLMDHWDYCHG	346	EGB82	WSGYCEFQDYWDYCGGS
2	9	QG	9	3	I
345	EGB80	WSGYCEMTDHWAHCSGS	347	EGB82	WSGYCEMEHGWYCSGT
3	2	H	0	4	I
345	EGB80	WSGYCEFEDHWDYCHGS	347	EGB82	WSGYCEFKDHDHCGDS
4	3	V	1	5	E
345	EGB80	WSGYCEMKDHWAHCGG	347	EGB82	WSGYCELEDHWAFCGGTI
5	5	LI	2	6	
345	EGB80	WSGYCEFKDHDYCHGS	347	EGB82	WSGYCEFKGYWDFCYGS
6	6	V	3	7	M
345	EGB80	WSGYCEMGDHDYCSGS	347	EGB82	WSGYCEGQYFWYHCSGS
7	7	V	4	9	G
345	EGB80	WSGYCEFNGFWAHCGGFI	347	EGB83	WSGYCEFQDHDHCFGS
8	8		5	0	S
345	EGB80	WSGYCLMKDHWGYCGG	347	EGB83	WSGYCEMNDHWDYCYG
9	9	WI	6	1	PK
346	EGB81	WSGYCEFEDHWDYCGNS	347	EGB83	WSGYCEFRDHDYCGNS
0	0	E	7	2	Y
346	EGB81	FQGHICALFPTDWICTLKS	347	EGB83	WSGYCEFKDHDYCGNS
1	1		8	4	D
346	EGB81	WSGYCEFKTHWGHCGNP	347	EGB83	WSGYCEFKDHDWDFCGGS
2	3	Q	9	5	Y
346	EGB81	WSGYCEFKDHDHCHSS	348	EGB83	WSGYCQTNDHDYCSGT
3	4	G	0	6	I

348	EGB83	WSGYCESYDHWYHCGGT
1	7	L
348	EGB83	WSGYCEYEDHWDYCGT
2	8	WV
348	EGB83	WSGYCEMEDRWAYCSGS
3	9	I
348	EGB84	WSGYCEFKDHDHDCGGS
4	0	L
348	EGB84	WSGYCQMKDHDYCSGS
5	5	L
348	EGB84	WSGYCEGKEHWYQCGGP
6	7	L
348	EGB84	WSGYCEFNDHWAHCHGS
7	8	P
348	EGB84	WSGYCEFKDRWAHCSGSI
8	9	
348	EGB85	WSGYCEFKGYWDHCGSS
9	0	K
349	EGB85	WSGYCEYKDRWAHCRGT
0	1	M
349	EGB85	WSGYCEFKDHDYCGGS
1	2	Y
349	EGB85	WSGYCEMKDHWAHCSGS
2	3	I
349	EGB85	WSGYCEYQDHWAHCGRS
3	4	M
349	EGB85	WSGYCEFSHDHDCGNS
4	5	K
349	EGB85	WSGYCEMKDHWAHCGG
5	7	SI

Таблица 19
Связывающие ErbB3 домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикации онный номер	Пептидная последовательность	351	EGC93	SLVSCPVHNPIWWSHCM
			3		EIM
349	EGC1	VYQLCIKMWVCTWHG	351	EGC94	GHRLCIWMQNFDGHCA
			4		GLV
350	EGC2	DLVGCLLFSHVSCFSPL	351	EGC99	CHVSCPFYNPNWWSHCM
			5		ELM
350	EGC3	PTLSACMEAKCVLIFL	351	EGC100	FLEMCMDWNPKTWCYC
			6		MEWM
350	EGC5	LLWRCELMPPWPYMCSE	351	EGC101	SFVMCPVYNPKQWSVCM
			7		EIL
350	EGC13	GTQECAQDDYFRYWCLR	351	EGC102	LFLMCLVYPSEKWHVCV
			8		ETL
350	EGC14	LDLCMTIERPHRQCPCG	351	EGC104	SLVKCPFFNPIWWSHCME
			9		LM
350	EGC19	LWRWCVWARDQPSS	352	EGC106	WSHACIVYNDKIMGACT
			0		CLT
350	EGC20	IAREFCMNYQCLRLLR	352	EGC115	DQVRCPFQNPVWWSHC
			1		MYLL
350	EGC21	SYWVCLTYFICWPSW	352	EGC117	PLERCPFQNPWFWSHCME
			2		ML
350	EGC39	VQQFVHWMESWNPACF	352	EGC120	KFFMCQVYPSNRWAVCV
			3		ETL
350	EGC40	LLNQCLQWAFHNCGCW	352	EGC121	TFYVCQIYPSGKWHVCV
			4		GTC
351	EGC44	LSWWCRMGWFEYGE	352	EGC122	RFFMCQVYPSYKWHVCV
			5		ESW
351	EGC48	WTHACVVWNMKQMEA	352	EGC123	KFLMCRLYPGKWHVCV
			6		ETL
351	EGC54	KVMFCWVMWKQCSSPP	352	EGC125	LEVYCPFENPIWWARCM
			7		ELM
351	EGC54	KVMFCWVMWKQCSSPP	352	EGC127	SRVRCPFQNPWLACM
			8		KMT
351	EGC54	KVMFCWVMWKQCSSPP	352	EGC128	SQVRCPFQNPWRNHCM
			9		ELI

353 0	EGC129	PKVRCPFQNPWWSHCM EML	354 7	EGC152	KFFMCQIYPSLKWHVCV EKL
353 1	EGC130	NFVMCQVYPSYTWVHC VGT	354 8	EGC153	KFVMCQVYPSKWHVCI APL
353 2	EGC132	KFMICRLYPGSLHICVE TS	354 9	EGC154	QFFMCQVYPSLRWSVCQ VTL
353 3	EGC133	TFMMCQVYPSLKWHVCI ETG	355 0	EGC155	GFVMCQVYPSQKWHVC LDTF
353 4	EGC134	RFVMCQVYPSLNWHVCV QTL	355 1	EGC156	GFHMCQVYPSGKWLVL HPR
353 5	EGC135	SPVRCPFQNPWYAHCM KIT	355 2	EGC157	EFYMCQVYPSKWHVCV DKL
353 6	EGC136	SKVYCPFQNPWFACIE LM	355 3	EGC158	FKERCPFQNPWYSRCME LI
353 7	EGC138	PQVRCPFQNPWYSHCM KLM	355 4	EGC159	SSVRCPFQNPWWSHCM ELL
353 8	EGC139	TQVRCPFQNPWWSHCM EML	355 5	EGC160	SEIRCPFKNPWYAHCMK LI
353 9	EGC140	KLMLCQVYPSLKWHVCV EAS	355 6	EGC161	SQVRCPFQNPWYTHCM ELL
354 0	EGC141	NFLMCQVYPSYKWHVC VEQL	355 7	EGC163	SQVYCPFHNPWLAHCM ELM
354 1	EGC142	RFLVCQVYPSLKWHVCV EKS	355 8	EGC164	KFILCQVYPSGKWHICTE TL
354 2	EGC143	TFFICQVYPSGKWHVCV DTV	355 9	EGC165	NLLCKVYPSGKWHVCF APL
354 3	EGC144	GFIMCQVYPSKWHVCL DRG	356 0	EGC166	KFQLCQVYPSKWHICV VTL
354 4	EGC145	KFIMCQVYPSKWHVCL ETM	356 1	EGC167	NFYMKVYPSKWHVCV ETL
354 5	EGC150	SDVYCPFSNPAWVHC MEML	356 2	EGC168	RFVMCQVYPSAKWHVC VETL
354 6	EGC151	TQVYCPFANPVWVWVHC MLLS	356 3	EGC169	TNIRCPFQNPWYSHICIAL T

356 4	EGC171	SPVRCPFQNPWYEHCM LI	358 1	EGC197	KFFLCQVYPSEKWHVCIE RL
356 5	EGC172	SAVRCPFHNPIWYSHCM KLL	358 2	EGC198	RYQMCQVYPSGKWHVC METI
356 6	EGC174	AQVRCPFQNPVWYSHCM DLI	358 3	EGC199	RFQMCKVYPSEKWHVCV EIL
356 7	EGC175	YFRMCQVYPSLKWHICV ETM	358 4	EGC222	WCTECMRRFPGHYCVAF C
356 8	EGC176	GFFMCQVYPSEKWHVCL ETL	358 5	EGC223	RAASCLDVFWHCHSWC
356 9	EGC177	GFIMCQVYPSLKWHVCV ETS	358 6	EGC224	CLSRCVDWVFSNCTSGR
357 0	EGC178	KFFMCQIYPSEKWHVCV KLW	358 7	EGC225	FLMLCHVSKYTIKCF SPL
357 1	EGC181	AASLCPFQNPWLAHCME MM	358 8	EGC226	WALACSWTPRWHQCIFS L
357 2	EGC182	SKVYCPFQNPWWSHCM ELI	358 9	EGC227	LERLCMEIFYVHCSGSI
357 3	EGC183	SQAYCPFQNPWNNHCM ELI	359 0	EGC228	SWRMCIEMLTHDECVR FV
357 4	EGC185	HLFLCQVYPSEKWHVCV ETL	359 1	EGC229	SSVVCVRGIHAWTCHFFV
357 5	EGC186	KFRMCQVYPSGKWHVC AETF	359 2	EGC232	LTSSCVYVYNWCAVWA
357 6	EGC187	KFFLCQVYPSGKYHICVS TW	359 3	EGC233	YRHLCVWLMEQCETAR
357 7	EGC189	KFYMCQVYPSVRWHVC VDTs	359 4	EGC234	RAASCLDVFWHCRRSWS
357 8	EGC191	TREICPFQNPWRSCLKL V	359 5	EGC236	HVSICWGYTYCWQIF
357 9	EGC192	PMVRCPFKNPVWYSHCL ELL	359 6	EGC237	RGASCLDLFWHCHSWG
358 0	EGC196	TFFMCQVYPSGKWHVCV GGL	359 7	EGC238	IYILCTNFKPVFWCVFST

359 8	EGC239	LWIRCSLLQYSYYCSWV W	361 5	EGC265	GSCALKNRSKCARRG
359 9	EGC242	SYLFCYTLYIDYNCWLW S	361 6	EGC266	KFQMCQVYPSGNWHVC VETM
360 0	EGC243	PGYRCVFQVNYQCGAAF	361 7	EGC267	RERTCVYFHKILHDFCPS RT
360 1	EGC244	TIIRCFWTFHMDFVCVTG V	361 8	EGC268	FKFTCYWAPYHTFCNTG Q
360 2	EGC245	WLNCGCVVITCIVEPR	361 9	EGC269	KFFMCQVYPSLKWHVW METL
360 3	EGC246	WGWRCYQSWSYQDCQY WY	362 0	EGC270	KFQCARFTLPETGMFVSK L
360 4	EGC248	FLMLCRVSKYTIKCF SPL	362 1	EGC272	WYEQCMKRHPQAFCLR FN
360 5	EGC250	RGRDCLRSFPGHYCVTR	362 2	EGC273	KFLMCQVYPSKKWHVCI ETL
360 6	EGC251	LN YICWRWAHQVPWQC SLFQ	362 3	EGC274	QFMLCQVYPSKKWHVC VVTV
360 7	EGC252	ASYSCWWGPMYMECWT KV	362 4	EGC276	CLGSCMLKGFERWCIHG H
360 8	EGC253	KTGSCQAQKVFSWCAQ WC	362 5	EGC277	KFFMCVDYPSLKWDVC METL
360 9	EGC254	KFFMCQVYPSLKWHVC METL	362 6	EGC278	RFFMCVDYPSIKWDVCPE TI
361 0	EGC255	KFM MCQVYPSLKWHVC VETL	362 7	EGC280	PRWTCEWYQARQSCSLG Q
361 1	EGC256	VEHLCSKIPFWHVQCLAR F	362 8	EGC281	KFHMCQVYPSRNWHVW VETL
361 2	EGC259	KFLMCQVYPSLKWHVC METL	362 9	EGC283	VEHLCSEIPFWNVQCLAR F
361 3	EGC263	QFLMCQVYPSLKWHVCV ETL	363 0	EGC284	KLFLCQVYPSERWHVCV ESL
361 4	EGC264	QFMLCQVYPSKKWHVC VVPV	363 1	EGC285	HLIMCQVYPSGKWHVCL ATT

363 2	EGC286	AVELCFHHTQEWTYCLW RF	364 9	EGC488	SIEPYCPFLNPTWKAECI VRS
363 3	EGC287	GEQLCSKIPSSDALWWV RLL	365 0	EGC489	VSEPYCPFLNPVWKDQC LSRI
363 4	EGC288	DALRCFEWVKRNCLLS	365 1	EGC490	LPPPCYWTTWGKECQMF D
363 5	EGC289	KFMMCQVYPSQKWHVC VETF	365 2	EGC491	KTEPYCPFLNPTWKAECI ART
363 6	EGC291	VEHLCSKIPFWHVQCLAR I	365 3	EGC492	TSDPYCPFVNPIWYNECI ART
363 7	EGC337	RYFYMCQVYPSERWQVC VGTS	365 4	EGC494	TGSPYCPFLNPTWKAHCI ARL
363 8	EGC453	SNLYLCQVYPSGKYHICI EAL	365 5	EGC500	ASEPYCPFLNPTWKDQC MARL
363 9	EGC465	YSEPYCPFLNPTWKNECI ARS	365 6	EGC501	RSEPYCPFLNPTWKAQCI YRT
364 0	EGC466	TSEPYCPFLNPIWKAECIS RT	365 7	EGC502	SIDPYCPFLNPTWLKECIA RS
364 1	EGC467	SYEPYCPFLNPTWKEQCII RS	365 8	EGC508	IGEPYCPFANPTWKQECI ART
364 2	EGC468	LNEPYCPFMNPNWKAEC LARM	365 9	EGC511	WSEPYCPFLNPAWKDQC LART
364 3	EGC469	SKGPYCPFLNPIWKDECI ARI	366 0	EGC512	MREPYCPFLNPTWKDQCI AIR
364 4	EGC470	NSEPYCPFINPIWKAECIA RT	366 1	EGC514	YREPYCPFLNPIWKEQCI ARS
364 5	EGC471	QSKPYCPFLNPTWKAQCI ARS	366 2	EGC515	ISAPYCPFLNPIWKDECIA RT
364 6	EGC472	TSTPYCPFLNPIWKAECIS RI	366 3	EGC516	LREPYCPFLNPIWNVECL ARS
364 7	EGC474	ISEPYCPFMNPTWKEQCL ART	366 4	EGC517	SSEPYCPFHNPTWKDQCL ARS
364 8	EGC476	VNDPYCPFLNPTWKAECI ART	366 5	EGC518	DSEPYCPFLNPTWKDQCL ARF

366 6	EGC519	NSEPYCPFLNPSWKASCI ARM	368 3	EGC542	MSDPYCPFQNPIWKAACI ART
366 7	EGC522	TSEPYCPFLNPIWKDQCIA RT	368 4	EGC544	ESEPYCPFVNPIWKAECIA RH
366 8	EGC523	RSEPYCPFLNPIWKNECIA RS	368 5	EGC546	YNEPYCPFVNPTWKAAC VART
366 9	EGC524	FSEPYCPFINPTWKAQCL ARI	368 6	EGC548	YSKPYCPFINPIWKEQCIA RH
367 0	EGC525	LNEPYCPFLNPIWKDECL ART	368 7	EGC554	LIEPYCPFLNPTWYDQCI ARS
367 1	EGC526	SREIYCPFLNPIWLAECIA RA	368 8	EGC557	REVPYCPFLNPIWKEQCII RT
367 2	EGC528	LTEPYCPFLNPTWKDQCL ARR	368 9	EGC561	SLQAYCPFVNPTWKNEC LARI
367 3	EGC529	SKDPYCPFVNPIWKHECI VRS	369 0	EGC563	LSEAYCPFLNPTWKQHCI ALT
367 4	EGC532	HSEPYCPFLNPIWKEQCM VRS	369 1	EGC564	MSEPYCPFLNPTWKEQCL ARS
367 5	EGC533	SSEPYCPFLNPTWKHECL LRT	369 2	EGC565	LNEPYCPFLNPIWKNQCI ARL
367 6	EGC534	ESEPYCPFTNPTWKAQCI ARS	369 3	EGC566	PSKPYCPFLNPHYWKAEC MSRS
367 7	EGC535	YNEPYCPFINPIWKAECIA RT	369 4	EGC568	ISEPYCPFLNPTWKDACIA RS
367 8	EGC536	ISEPYCPFQNPTWKFQCLI RS	369 5	EGC570	PDSWCHTLYWDLLYCVN QE
367 9	EGC538	RSEPYCPFLNPTWKEQCI ARQ	369 6	EGC572	QGQPYCPFVNPIWYAEC MTRT
368 0	EGC539	GRETYCPFLNPIWKAQCL ART	369 7	EGC578	RPEPYCPFKNPNWKEQCL ARY
368 1	EGC540	KSEPYCPFLNPIWKDQCI VRS	369 8	EGC579	SSEPYCPFINPTWKQECIA RT
368 2	EGC541	VIEPYCPFLNPTWKDHCI ART	369 9	EGC582	TTEPYCPFLNPIWKDQCI ARW

370 0	EGC583	VSEPYCPFLNPYWKDQCI ARH	371 7	EGC605	YSEPYCPFVNPTWLDQCI ART
370 1	EGC584	YNEPYCPFLNPTWKDQC LARI	371 8	EGC606	YSEPYCPFLNPTWKAQC MAMI
370 2	EGC585	RSEPYCPFYNPIWYDHC ALT	371 9	EGC608	LSEPYCPFLNPTWKAACL ARI
370 3	EGC586	NPEPYCPFLNPIWKEQCIL RS	372 0	EGC609	IRKPYCPFLNPTWYNECI QRS
370 4	EGC589	LSGLYCPFLNPTWKDQCI ARM	372 1	EGC610	QGEPYCPFLNPAWKDACI ERL
370 5	EGC590	ISQPYCPFTNPTWLAECIA RS	372 2	EGC612	GSEPYCPFFNPIWKDQCIT RF
370 6	EGC592	LNTPYCPFINPTWKDECL ARS	372 3	EGC613	RSEPYCPFLNPTWKEHCI ART
370 7	EGC594	YEEHCRLFPADWICSLQ	372 4	EGC614	TNEPYCPFLNPTWKQCCI ART
370 8	EGC595	NSEPYCPFLNPSWKAQCI ARS	372 5	EGC615	TSEPYCPFENPIWKAQCIS RS
370 9	EGC596	ADSWCHTLYWNLRHCEI QE	372 6	EGC616	KSEPYCPFLNPYWKDQCI ARS
371 0	EGC597	SSEPYCPFLNPTWKEQCI ART	372 7	EGC617	LREPYCPFLNPTWKAECI ARI
371 1	EGC599	DTKPYPFLNPIWKNQCI ERT	372 8	EGC619	TNDPYCPFLNPIWKAQCL DRY
371 2	EGC600	TRDPYCPFLNPIWKDECF ART	372 9	EGC620	KGQPYCPFLNPIWKEQCL ART
371 3	EGC601	KEEAYCPFLNPLWKDEC VART	373 0	EGC621	SSEAYCPFLNPTWKQECI ARL
371 4	EGC602	PESWCHTLYWNLQHCLS QE	373 1	EGC623	ANSWCHTLYWDLMYCV WQE
371 5	EGC603	MSEPYCPFQNPTWKHECI ART	373 2	EGC624	TIEPYCPFLNPIWKDQCIA RS
371 6	EGC604	DSDPYCPFVNPIWKAQCI ARS	373 3	EGC625	QHEPYCPFLNPVWKHECI ART

373 4	EGC626	IREPYCPFLNPTWKAQCI ART	375 1	EGC646	RSEPYCPFLNPVWKDQCI ARS
373 5	EGC627	HSAPYCPFLNPIWKDECI ARS	375 2	EGC647	SSEPYCPFLNPIWKYHCIA RS
373 6	EGC628	VSEPYCPFLNPTWKAHCI ELS	375 3	EGC648	PGSPYCPFLNPFWKEQCI VRT
373 7	EGC629	SSDPYCPFLNPTWYDQCI ERY	375 4	EGC649	YEEHCALFPTDWICTLH
373 8	EGC630	ISDPYCPFVNPYWKAEI ART	375 5	EGC651	FIEPYCPFINPTWKAECIA RT
373 9	EGC631	NIDPYCPFLNPTWKAECI ARI	375 6	EGC652	DKFYLCQIYPSEKWHVC VWSS
374 0	EGC632	PREPYCPFLNPLWKNQCI ERT	375 7	EGC653	EKFMCQIYPSKNWAVC VETF
374 1	EGC634	IRVPYCPFQNPTWYDQCI ART	375 8	EGC654	HKFYMCQVYPSEKWHV CVETL
374 2	EGC635	PDSWCHTLYWHLQHCLS QE	375 9	EGC655	LSEPYCPFLNPSWKAECI ARS
374 3	EGC636	TNDPYCPFLNPTWKAECI ARH	376 0	EGC656	LSEPYCPFLNPIWKEQCIA RS
374 4	EGC637	VSEPYCPFLNPTWKAQCL NRI	376 1	EGC657	LSEPYCPFLNPTWKDQCI ARS
374 5	EGC638	PIDPYCPFLNPIWKEQCH ARS	376 2	EGC658	RSEPYCPFVNPWKAECI VRS
374 6	EGC639	VREPYCPFLNPTWKNECI ART	376 3	EGC659	QFEPYCPFLNPTWKEQCI ARI
374 7	EGC640	LIEPYCPFLNPIWKDQCL ART	376 4	EGC660	PIEPYCPFQNPTWKAQCI ART
374 8	EGC641	PKFFMCQVYPSGKWHVC TGTV	376 5	EGC661	YRQPYCPFLNPTWKAQC MART
374 9	EGC642	PKYYMCQIYPSLKWNVC LETL	376 6	EGC663	DNFYMCQVYPSLKWHIC VSIL
375 0	EGC644	LNFYICKLYPSANLHVCV DTL	376 7	EGC664	SMFFMCQVYPSEKWHVC VYPL

376 8	EGC665	SKFFMCQVYPSEWHVCI EPL	378 5	EGC684	SDFFMCQVYPSQKWHVC VKSL
376 9	EGC666	LKFYMCQVYPSGNWNV CTATQ	378 6	EGC686	PDSWCHTLYWSSLHCAR QE
377 0	EGC667	NSEPYCPFHNPTWKAAC MART	378 7	EGC687	LPFFMCQVYPSKSWHVC VETS
377 1	EGC668	RSEPYCPFLNPIWKEQCI RT	378 8	EGC688	LSEPYCPFQNPTWKEQCV ARS
377 2	EGC669	SREPYCPFLNPTWKEQCI ARI	378 9	EGC689	ADSWCHTLFWNLKHCLI QE
377 3	EGC671	MREPYCPFLNPSWKEQCI ARS	379 0	EGC690	GGDPYCPFLNPTWKAECI ART
377 4	EGC672	LREPYCPFLNPVWKNCCI ART	379 1	EGC691	VREPYCPFLNPIWKDQCI ART
377 5	EGC673	ITDTYCPFQNPWKAECIA RT	379 2	EGC692	ASEPYCPFLNPIWKDQCI ART
377 6	EGC674	FNFFMCQVYPSEKWHIC VKSL	379 3	EGC693	SSEPYCPFQNPTWKDQCI ARN
377 7	EGC675	KKFYMCQIYPSEKWHVC VERI	379 4	EGC694	ADSWCHTLYWNLLYCA NQE
377 8	EGC676	TRYSMCQVYPSLRWHVC VENL	379 5	EGC696	SWFFMCQIYPSLKWHVC VETL
377 9	EGC678	LGEPYCPFLNPTWKAQCL YMS	379 6	EGC698	STFYMCQVYPSQRWHVC VDTL
378 0	EGC679	SSEPYCPFLNPIWKNECL ARQ	379 7	EGC700	SREPYCPFLNPTWYDECI ART
378 1	EGC680	RSEPYCPFLNPIWKEHCIN RS	379 8	EGC701	QSEPYCPFLNPMWKEQCI VRI
378 2	EGC681	HSQPYCPFQNPTWYEQCI ART	379 9	EGC702	TSEPYCPFDNPTWKARCL AML
378 3	EGC682	SNEPYCPFLNPSWKDACL QRT	380 0	EGC703	ARQPYCPFLNPTWKNEC MARS
378 4	EGC683	LSDVYCPFVNPTWKAECI ARS	380 1	EGC704	PSEPYCPFLNPIWKAECIA RT

380 2	EGC705	IAILTALSLTSLSGRTSASSE	381 9	EGC724	PSEPYCPFVNPTWLDECI ARS
380 3	EGC706	YSAPDCPFVNPIWKNA CI ARY	382 0	EGC725	ASEPYCPFLNPIWYEQ CIN RT
380 4	EGC707	ADSWCHTLFWQLQHCV WQE	382 1	EGC726	PISPYCPFLNPIWYEE CIA RS
380 5	EGC708	LNFSMCQVYPSYKWH VC VGTL	382 2	EGC727	VGEPYCPFMNPIWKE QCI LRS
380 6	EGC709	MEFFMCQVYPSEKWH VC VAKL	382 3	EGC729	ADSWCHTLYWQLLHC V NQE
380 7	EGC710	LRYYICQIYPSEKYH VCV DTL	382 4	EGC736	ADSWCHTLYWQLLHC VS QE
380 8	EGC711	VIEPYCPFLNPTWKA ECL ARS	382 5	EGC737	DQVRCPFQNPVWWS HC MYLL
380 9	EGC712	STEPYCPFLNPIWKD ACIA RH	382 6	EGC745	DQVRCPFQNPVWWS HC MYLL
381 0	EGC715	WRDPYCPFLNPIWKE QCI ARY	382 7	EGC746	DQVRCPFQNPVWWS HC MYLL
381 1	EGC716	RSEPYCPFLNPTWKD QC MART	382 8	EGC752	YTKHCQRLPTYKIC NLFM
381 2	EGC717	VIDPYCPFLNPIWKE QCQ VRT	382 9	EGC754	DQVRCPFQNPVWWS HC MYLL
381 3	EGC718	SKFFMCQVYPSKKW HVC VEAL	383 0	EGC755	ADSWCHTLYWQLQH CLS QE
381 4	EGC719	IKFFMCQVYPSELW HVC VQKQ	383 1	EGC759	DQVRCPFQNPVWWS HC MYLL
381 5	EGC720	TTFPMCQLYPSGNW HVC TETL	383 2	EGC763	DQVRCPFQNPVWWS HC MYLL
381 6	EGC721	FKFFMCQTYPSEKWH VC VEKL	383 3	EGC764	DQVRCPFQNPVWWS HC MYLL
381 7	EGC722	SSEPYCPFLNPLWHE QCL ARI	383 4	EGC765	TDSWCHTLYWQLHH CAI LE
381 8	EGC723	AREPYCPFLNPIWKA ECV ARY	383 5	EGC770	DQVRCPFQNPVWWS HC MYLL

383 6	EGC771	YQVTCPFLNPPWWSHCM YLL	385 3	EGC802	QERLCRQIWQHVCVRYM
383 7	EGC772	DQVRCPFQNPVWWSHC MYLL	385 4	EGC803	QPRECNYVPAWYCHYYS
383 8	EGC776	HRAPCFSTACRQPCFSL T	385 5	EGC804	VYQYHCDWYTCLFRHT
383 9	EGC777	YQVTCPPFNPLWWSHCM YLL	385 6	EGC806	FQGHICALFPTDWICTLKS
384 0	EGC783	SEPYCPFLNPTWKSQCIA RT	385 7	EGC807	QMCHMEWHNHVYWQV CHW
384 1	EGC789	YEVQCPFQNPWWKHC DLI	385 8	EGC808	WMRQCHLETECQRAS
384 2	EGC791	ESCWTWDHWYQYWVPQ RCDP	385 9	EGC809	SAVACFHPPYFFICVASG
384 3	EGC792	ANSWCHTLWQLHHCEI LE	386 0	EGC810	LRRRCHSRFMQCSNPG
384 4	EGC793	QACNFTSLGWYQEFYCL R	386 1	EGC811	GQTWCHWGMYCISTT
384 5	EGC794	WACRWEWHAAWQKWD EFCVE	386 2	EGC818	WEYQCEWGYSYKPCW LSA
384 6	EGC795	AYCYRSIISRNSTCSAL	386 3	EGC820	LPLTCWVLEWHEWLACV SYD
384 7	EGC796	VYCFLNFKTMNYAGEFW CRH	386 4	EGC822	WSYSCVFLPWMYHMCY LET
384 8	EGC797	SWCMWYYESTYSAPYY YCSV	386 5	EGC823	WFYQCWQSPWHTCSW VN
384 9	EGC798	SQCHWWHEPYGMFQTEI CLW	386 6	EGC824	RDQPCWYKIMTGCLCMP
385 0	EGC799	GLHGCQYVQMFFHFCAP KT	386 7	EGC825	LPPSWCVRGECSWLLL
385 1	EGC800	WQHVCWQDWYSWVCTS GY	386 8	EGC826	DESDCKQLPICHGHCLVP L
385 2	EGC801	PWRGCWWDPWPWDC VPFF	386 9	EGC827	YQVFCEWSYWEYHCISN Q

387 0	EGC828	VQHHCLYRQHSYRECVR HY	388 7	EGC858	IFVMCEDSWPVPFCFSNR
387 1	EGC829	YIDCVPLPGFYLPQLG	388 8	EGC859	VEWMCYAYPFDPECYYN W
387 2	EGC831	WHQACEYQYYNWECSM GW	388 9	EGC861	DEHLCSISRSGMSFAWAG
387 3	EGC832	ETFSCYVFPFFYECYSTP	389 0	EGC862	ASEPYCPFLNPVWKEQCI ARL
387 4	EGC836	WTNLCWGPLCKCLQQ	389 1	EGC863	PREPYCPFHNPIWKNQCI ART
387 5	EGC839	YQVMCLHQPFVSFCHYE T	389 2	EGC865	ESEPYCPFLNPIWKAHCIA RT
387 6	EGC840	GTHWCRYYP SYAECYV WL	389 3	EGC866	DSEPYCPFLNPIWKEQCL ARM
387 7	EGC841	TWLCDCSYWGCWWELG	389 4	EGC867	TSDPYCPFLNPTWKAECI ART
387 8	EGC842	LWVGCIYPWTEWCPIA W	389 5	EGC868	WSEPYCPFTNPTWKAACI ARS
387 9	EGC844	VWLMCWHYIFCPSKL	389 6	EGC869	ARDPYCPFQNPWIWYNECI ART
388 0	EGC845	PEYLCWVYPYAPQCWDL V	389 7	EGC870	PREPYCPFHNPAWKAAC VARA
388 1	EGC846	VEHLCSKIPFWMFSAWP G	389 8	EGC871	TNESYCPFLNPTWKAEC MARI
388 2	EGC849	ICEACPKHVSEQCIRLR	389 9	EGC872	DREPYCPFLNPYWQDQC LART
388 3	EGC851	WRVICMARPTGEQCEWV W	390 0	EGC873	ISDPYCPFVNPIWKEQCIA RN
388 4	EGC854	DWSKCIQFSLPHDHCLMF M	390 1	EGC874	RNEPYCPFVNPIWKEQCII RT
388 5	EGC856	SRWECAWIVGYHHWDC RWLF	390 2	EGC875	LTPPYCPFENPTWKAQCI ART
388 6	EGC857	SMEYCFWYHYCQLGV	390 3	EGC876	SIEPYCPFLNPTWLEQCIA RS

390 4	EGC877	KSEPYCPFLNPTWHDQCI ARN	392 1	EGC895	GSEPYCPFLNPTWKEQCL ARL
390 5	EGC878	IIGPYCPFLNPEWKDQCM ART	392 2	EGC896	MSEPYCPFLNPIWKEQCI ARS
390 6	EGC879	YREPYCPFQNPYWKDQCI ARY	392 3	EGC897	RGEPYCPFTNPIWKEQCI NRS
390 7	EGC880	AIEPYCPFLNPIWKDQCL ARI	392 4	EGC898	DADPYCPFLNPTWKAEC LARS
390 8	EGC881	MSRPYCPFLNPIWKEQCI ART	392 5	EGC899	RGEPYCPFLNPAWKNEC LART
390 9	EGC882	YNKPYCPFQNPWTWKEAC LARS	392 6	EGC900	IIEPYCPFVNPWKAQCIA RS
391 0	EGC883	SSEPYCPFLNPTWKAECI ARS	392 7	EGC901	EDEPYCPFLNPIWKAQCL ART
391 1	EGC884	LSEPYCPFQNPWKDKCI AMS	392 8	EGC902	FTEPYCPFINTWKAECIA RS
391 2	EGC885	SYEPYCPFLNPTWKAECI ARI	392 9	EGC903	TSEPYCPFLNPIWKEQCIT RT
391 3	EGC886	GSEPYCPFLNPTWKEQCII RT	393 0	EGC904	VEPYCPFLNPTWKDACL ART
391 4	EGC888	SSEPYCPFLNPTWKSQCI ARS	393 1	EGC905	TSEPYCPFNGPIWKKECIA RT
391 5	EGC889	RSEPYCPFLNPIWKDHCI ART	393 2	EGC906	TSEPYCPFLNPTWKDECI ARM
391 6	EGC890	RSEPYCPFLNPTWKAECI ARS	393 3	EGC907	SNEPYCPFLNPTWKAQCL ARM
391 7	EGC891	SREPYCPFLNPIWKDKCIS RT	393 4	EGC908	YREPYCPFLNPTWKEQCI ARS
391 8	EGC892	TSDPYCPFLNPIWKEQCIV RT	393 5	EGC909	LNAPYCPFLNPNWYDQCI HRS
391 9	EGC893	EREPYCPFLNPTWKEQCL ARH	393 6	EGC910	SSDPYCPFLNPTWKQQCI ERS
392 0	EGC894	LREPYCPFLNPTWKAECI ARS	393 7	EGC911	ASEPYCPFLNPTWKEQCI ART

393 8	EGC912	LSEPYCPFQNPWTWYDECI SRS	395 5	EGC929	RGEPYCPFKNPTWKYQC LART
393 9	EGC913	SSEPYCPFLNPWKHECI ARS	395 6	EGC930	IREPYCPFLNPIWKAHCIA LT
394 0	EGC914	GSEPYCPFLNPIWKAECIA RS	395 7	EGC931	VSEPYCPFMNPIWKAECI SRT
394 1	EGC915	RIEYCPFVNPTWKDQCL ART	395 8	EGC932	EREYCPFLNPIWLEQCLS RT
394 2	EGC916	SIEPYCPFLNPTWKEQCI RS	395 9	EGC933	YSEPYCPFLNPIWKEQCI RT
394 3	EGC917	RTEPYCPFLNPTWKEQCI ARS	396 0	EGC934	FGEPYCPFLNPTWKAECI VRS
394 4	EGC918	PSEPYCPFLNPTWKDQCL QRS	396 1	EGC935	LREPYCPFLNPTWKEQCL VRT
394 5	EGC919	YSEPYCPFLNPTWKAECI ART	396 2	EGC936	STDPYCPFLNPVWNYQCI ART
394 6	EGC920	TSEPYCPFLNPTWKEHCM ART	396 3	EGC937	SHEPYCPFQNPWKAECI ART
394 7	EGC921	GSNPYCPFLNPIWKEACL ART	396 4	EGC938	LNDPYCPFLNPIWKEQCM SRY
394 8	EGC922	INEPYCPFQNPFWYAECL ART	396 5	EGC939	GYAPYCPFLNPIWKNECI TRT
394 9	EGC923	TREPYCPFLNPTWLDQCI ART	396 6	EGC940	FSEPYCPFVNPYWKEQCI ART
395 0	EGC924	IREPYCPFLNPSWKAECIA RS	396 7	EGC941	HTEPYCPFLNPTWKEQCL ARF
395 1	EGC925	ASEPYCPFINPTWKDECIA RS	396 8	EGC942	GYEPYCPFLNPIWKAECK ARS
395 2	EGC926	HSEPYCPFLNPTWKEQCI ARS	396 9	EGC944	LREAYCPFINPIWKDQCM ARI
395 3	EGC927	MKEPYCPFLNPTWKAQCI ART	397 0	EGC945	LIEPYCPFLNPHWKAECI ARY
395 4	EGC928	TDETYCPFKNPIWYEECI ARS	397 1	EGC946	SSEPYCPFINPMWKDQCL ART

397 2	EGC947	PSDPYCPFLNPSWKAEC LART	398 9	EGC965	HSEPYCPFVNPTWYNECI SRT
397 3	EGC948	SSEPYCPFLNPIWKAECIA RA	399 0	EGC966	RSEPYCPFLNPIWKDQCI ARS
397 4	EGC949	FPEPYCPFLNPHWKAQCL ERL	399 1	EGC967	VNEPYCPFLNPKWYAEC LART
397 5	EGC950	FREPYCPFLNPTWKQQCL ARI	399 2	EGC968	QNDPYCPFLNPIWKAQCI ARS
397 6	EGC951	PREPYCPFLNPIWKDECIA RT	399 3	EGC969	SSEPYCPFLNPHYWKEQCI ART
397 7	EGC952	MSDPYCPFLNPTWKAQCI ART	399 4	EGC970	YREPYCPFLNPHYWKDQC MART
397 8	EGC954	NSEPYCPFSNPTWKDECL IRS	399 5	EGC972	MHEPYCPFINPTWYEQCL ARS
397 9	EGC955	LREPYCPFLNPTWKEQCI ARY	399 6	EGC973	QLKPYCPFLNPIWYDQCV SRT
398 0	EGC956	HNKTYCPFLNPTWKAQCI ART	399 7	EGC974	SSEPYCPFLNPSWKDQCI ARL
398 1	EGC957	IGEPYCPFLNPTWKEECIR RT	399 8	EGC975	YIDPYCPFLNPTWKDACL ARS
398 2	EGC958	ISEPYCPFINPTWKAECIA RS	399 9	EGC976	SSEHYCPFVNPAWKEACI ARY
398 3	EGC959	TKAPYCPFKNPIWKAECI ART	400 0	EGC977	QSEPYCPFVNPTWKNECI ARY
398 4	EGC960	PGDPYCPFLNPIWKQECI VRN	400 1	EGC978	LSDPYCPFLNPIWKDQCI ART
398 5	EGC961	STEPYCPFSNPTWKAQCI ARI	400 2	EGC979	LGEPYCPFINPTWKAEC LART
398 6	EGC962	RSEPYCPFLNPTWKDQCI ARS	400 3	EGC980	YGDPYCPFLNPTWKENCI ART
398 7	EGC963	SSEPYCPFLNPIWKEHCIA RT	400 4	EGC981	LTEPYCPFLNPTWKDECL ART
398 8	EGC964	YREPYCPFLNPIWKEQCI ART	400 5	EGC982	FREPYCPFKNPTWLAQCI ARS

400 6	EGC983	ANEPYCPFLNPHWKGC VLRS	402 3	EGC100 1	ISAPYCPFKNPIWKAECIA RS
400 7	EGC984	LNEPYCPFNNPTWKEECI KRS	402 4	EGC100 3	IGEPYCPFLNPTWKDQCL VRS
400 8	EGC985	QSEPYCPFLNPTWYTECV ART	402 5	EGC100 4	SSVPYCPFKNPTWKAECI ART
400 9	EGC986	SSQPYCPFLNPTWKDACL ART	402 6	EGC100 5	YREPYCPFLNPLWKDECI ART
401 0	EGC988	SHEPYCPFLNPEWKAECI ARN	402 7	EGC100 6	HSEPYCPFLNPTWKDECI TRT
401 1	EGC989	ASDPYCPFLNPIWKDQCI LRS	402 8	EGC100 7	YSDPYCPFLNPSWYDECV SRM
401 2	EGC990	DNDPYCPFLNPTWKEEC VARS	402 9	EGC100 8	YREPYCPFLNPTWYVECI ARS
401 3	EGC991	ESEPYCPFVNPIWKDQCM ARY	403 0	EGC100 9	HREPYCPFLNPAWKEQC LVRS
401 4	EGC992	LSAPYCPFLNPTWKDQCL ART	403 1	EGC101 0	ASEPYCPFLNPTWRDACL ART
401 5	EGC993	SSEPYCPFLNPIWKQACY DRT	403 2	EGC101 1	LREPYCPFLNPTWKEQCI ARS
401 6	EGC994	VDEPYCPFLNPNWKEACI ARS	403 3	EGC101 2	SSEPYCPFLNPTWYNECI YRI
401 7	EGC995	LIEPYCPFLNPTWKEQCF VRS	403 4	EGC101 3	LREPYCPFENPIWKEKICIA IT
401 8	EGC996	NDEPYCPFLNPIWKAQCL ARN	403 5	EGC101 4	PSEPYCPFLNPTWKAECI ART
401 9	EGC997	AGKPYCPFLNPSWYDECI RRL	403 6	EGC101 5	ATEPYCPFLNPIWKAQCI ERM
402 0	EGC998	LSEPYCPFLNPIWKDQCM IRS	403 7	EGC101 6	LGEPYCPFLNPTWKLQCL ART
402 1	EGC999	STEPYCPFLNPTWKDQCI ARI	403 8	EGC101 7	ATEPYCPFLNPVWKDQCI LRT
402 2	EGC100 0	PREPYCPFLNPVWKAQCI ARW	403 9	EGC101 8	PIEPYCPFINPMWKAECIA RT

404 0	EGC101 9	GREPYCPFLNPVWYNEC MVRF	405 7	EGC103 7	KECLFTVPGVQHPVMWY CLT
404 1	EGC102 0	VIEPYCPFLNPIWKEQCIA RS	405 8	EGC103 9	LLCRGQTANNLQPDECLT
404 2	EGC102 1	TIEPYCPFLNPTWYKECL LRS	405 9	EGC104 0	TCCRDIWYMYRFLYTQCG M
404 3	EGC102 2	LGEPYCPFLNPTWKDQCT ARS	406 0	EGC104 1	SFHRCFEWVRHNCVWGA
404 4	EGC102 4	LNEPYCPFLNPIWKAQCI ART	406 1	EGC104 2	ETLACAKLMPWYNECLA RF
404 5	EGC102 5	WSEPYCPFLNPTWKAECI ART	406 2	EGC104 3	RYCDHFVNHHDDYKLCCL T
404 6	EGC102 6	ASEPYCPFWNPIWKAQCI ARI	406 3	EGC104 4	WQCEWQWVQEWGAWD KFCVM
404 7	EGC102 7	ISEPYCPFVNPTWKAQCI ART	406 4	EGC104 5	LERLCIEIWSYHCRSFL
404 8	EGC102 8	VIEPYCPFVNPTWKEQCI LRS	406 5	EGC104 6	LATWCQRWLASACFGLF
404 9	EGC102 9	MSCDEAWYNEQTLWLC VT	406 6	EGC104 7	GWCFEYYPEVSRFVYSD CNS
405 0	EGC103 0	WQCEWQWVQEWGAWD EFCVM	406 7	EGC104 9	YQVKCPFQNPVWWTHC MYLL
405 1	EGC103 1	GYCATDYWDYNGVWGT YCTQ	406 8	EGC105 0	WHCQFWVPEWGAWD EFCVM
405 2	EGC103 2	RYCYLFEKYAPFYDQCLL	406 9	EGC105 1	STCLLQYYQFDVFSKKFC PL
405 3	EGC103 3	RYCYLFQKYAPFYDQCL L	407 0	EGC105 2	WHCEWHWVQEWGAWD EFCVM
405 4	EGC103 4	GCCYWWGLVYDKWIKC ET	407 1	EGC105 3	PKVRCPFQNPVWWSHCM EIL
405 5	EGC103 5	YQVKCPFQNPVWWSHC MYLL	407 2	EGC105 6	SVCHKMWPIIDDLYYCLR
405 6	EGC103 6	GYCFLFYKFPQYHMQCII	407 3	EGC105 7	SLCQHFQQPVWYQACI R

407 4	EGC105 8	YQVRCPFQNPVWWSHC MYLL
407 5	EGC105 9	GYCFLFYKFPQYHMQCIS
407 6	EGC106 0	LLCRGQSANNLQRDECL R
407 7	EGC106 3	WHCQWFWVHEWGAWN EFCVM
407 8	EGC106 6	WQCEWEVWQEWGAWD EFCVM
407 9	EGC107 0	DQVKCPFQNPVWWSHC MYLL
408 0	EGC107 2	WHCEWQWVQEWGAWD EFCVM
408 1	EGC107 3	PKVRCPFQNPWWSHCM KIL
408 2	EGC107 4	GRCRGYEVDPPWHAPCF CDL
408 3	EGC107 5	ILCQHFQQPVWYQACIR
408 4	EGC108 2	WNEPYCPFLNPTWKAQC IARI
408 5	EGC108 3	LGEPYCPFLNPFWDQCI ARN
408 6	EGC108 4	LGEPYCPFLNPYWDQC MSRT
408 7	EGC108 5	ASSETYCPFLNPYWDQ CMSRTSGGSGGGSQAA AGGSYMHEPHMQVLEIM N

Таблица 20
Связывающие ErbB4 домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикации онный номер	Пептидная последовательность	410	EGD15	ADGHCWMYQDWMCLY
			9		LM
409	EGD1	HPWRCLKKPEVVQCLRTG	411	EGD16	EQLNCQEKIQYWCTRIY
			0		
409	EGD2	GIFACVKEPEVVKCLISW	411	EGD17	AYADWCSCINASSWT
			1		
409	EGD3	HPWRCLEPEVVQCLRTG	411	EGD18	AYTDWCSWHRCVQLDS
			2		
409	EGD4	EERLCYTPEAIFVDCTLHF	411	EGD19	YLIMCKEFPWSFTCGTLY
			3		
409	EGD5	SRADWCDWHKCVVLQW	411	EGD20	DNSGCNAPTFCGFLW
			4		
410	EGD6	AYADWC SWHQC VQLDS	411	EGD21	SPFLCVHDFQVIECLIRW
			5		
410	EGD7	SVLVCW MYDQC VSVS	411	EGD22	QDNCCFIIDNCQSGF
			6		
410	EGD8	HRWRCLIEPEVVQCLRTG	411	EGD23	SVGRCF SHMPYHVSCSVS
			7		V
410	EGD9	ADGHCW MY YEDWMCLY	411	EGD24	GWPPCADWMDQQLCSSA
			8		L
410	EGD10	SGWHCWVDYFCTRVE	411	EGD25	LKYRCVIYFHCYGWM
			9		
410	EGD11	VGAFCLPFEYWYQDCTRR	412	EGD26	SQNVCLHLPWGWECEFAW
			0		P
410	EGD12	PVETCMNYYEDIICRFLV	412	EGD27	KPWRTCFNHGCELSLR
			1		
410	EGD13	WKDFCPDVPPWLACTGSS	412	EGD28	SRADWCDWXNASSCS
			2		
410	EGD14	FPFSCVMRPHVIECLLSG	412	EGD29	EGPPCYDWWTSSCARVR
			3		
410	EGD15	ADGHCW MY YEYWMCLY	412	EGD30	ADGHCW MY YEYWMCLY
			4		LM

SEQ ID:	Идентификационный номер	Пептидная последовательность
4125	DR51	VSDTCMVIMTCRYSP
4126	DR52	SERICFKIYMTSKNTCQKAS
4127	DR54	ALRPCLVYMSMKCSVTW
4128	DR55	SLTPCVYLTMCAPGH
4129	DR57	DVGECRVIMTCRPSS
4130	DR58	QQGSCKIYMTCRYSH
4131	DR59	QWQVCYWTEGRWADSCGWAQ
4132	DR510	SVYPCKVIMTCLRSP
4133	DR512	TGNICKRPVLTCNWSG
4134	DR513	TEFGCQVYMTCRPKL
4135	DR514	SVYPCKVIMTCLKSP
4136	DR515	NFRMCIPIMTMHCWADD
4137	DR516	DQYTCDRVILTCWTPH
4138	DR517	RVSECFLYLTCHKGQ

4139	DR518	PTRECTVILTQHCWNVW
4140	DR519	LTPCQPIMTCKRPV
4141	DR520	SPSPCKVIMTCAPLN
4142	DR521	ARHPHEPPYLCMKCL
4143	DR523	ANDRCIPIMHWHCWAYW
4144	DR524	VQGGCDLVILTCKMWG
4145	DR525	LRDFCSTTMAHQCHFGP
4146	DR526	AKGECQVYLTCRYNS
4147	DR527	GSEGCKVILTMKCPDRI
4148	DR528	EYVECGPHQYYWFGHCHFWA
4149	DR529	KCNFNPWKAACG
4150	DR530	YAERCKVYLTMKCDISQ
4151	DR531	PSEMCVVVMRNYCWSST
4152	DR533	LSSGCMVYMTMKCGSTK
4153	DR534	VGADCWVIMTCRKNL
4154	DR535	ATTPCMVYMTCFRTP
4155	DR537	QDRACFPIMTLHCPGEG

Таблица 21
Связывающие DR5 домены MRD

415 6	DR539	QTRNCGVWPNHLVCMPL S	417 3	DR561	LQSECFVIMTCKRVN
415 7	DR540	LQKVCAAWYYCMESH	417 4	DR562	NTKPCMPIMTCLKWN
415 8	DR541	LRANCKVVLTERCGNYL	417 5	DR563	WNTPCMVIMTCRPHE
415 9	DR542	ADEACLVVLTCRASP	417 6	DR564	PLTKCKVIMTCARGI
416 0	DR543	SGLGCPQNHLVLTCRHA M	417 7	DR565	WHYPCQPVLTCRSHN
416 1	DR544	WIAGCKLVLTCLNYF	417 8	DR566	FQTECLVYMTCRTIY
416 2	DR545	NNSQCQVILTHRCHSLT	417 9	DR568	WESPCFIKLTCHMVA
416 3	DR548	KVSVCFPILTMYSERY	418 0	DR569	FVGHCWWPLGLCAPLP
416 4	DR550	NDLMCQPIMTMKCARYQ	418 1	DR570	SSMSCVEYQQCRLGY
416 5	DR551	ILIFCQTPPHCLSKL	418 2	DR571	ARDSCLVYMTCPVA
416 6	DR552	SYQRCKVIMTQKCIVPP	418 3	DR573	LNASCMVYLTQRCSTTS
416 7	DR553	TSDRCVVVLTCRMWG	418 4	DR574	RHDGCNKIMLTCHTRA
416 8	DR554	HVSRCEPVLTMHCWRGS	418 5	DR575	HRDPCTVVLTCRSL
416 9	DR555	PSYPCSILTCRSTL	418 6	DR576	MTSECQKVILTCWNAS
417 0	DR557	RDSECFIYLTCRVLP	418 7	DR577	YMSVCHIDGHQVCLKN K
417 1	DR558	SAEDCFVILTCLCSR	418 8	DR580	SGDTCLVILTHRCATVS
417 2	DR559	DRYPCYFYLTCPAS	418 9	DR581	YTAPCKVYMTCVRPM

419 0	DR582	LRANCKVVLTERCCNYL	420 7	DR510 4	PLTKCKVIMTCAWGI
419 1	DR583	PPSSCQVILTCRPIW	420 8	DR510 5	GISGCKLVLTQRCLHVN
419 2	DR584	LSTRCTDQDIVLTCRIKD	420 9	DR510 7	ERQGCVVYLTERCVVGR
419 3	DR586	WHYPCQPVLTCRSRT	421 0	DR510 9	NNSQCQVILTHHCHSLT
419 4	DR588	GQTDCMIIMTCKQWK	421 1	DR511 0	DKSPCQVVMTCRPLL
419 5	DR589	PATRCEPVLRHFCWGQG	421 2	DR511 1	ALHKCMVILTNRCEPVP
419 6	DR590	DSFGCTWEVWGRECHPQ L	421 3	DR511 2	TTTSCKLYLTSTCSPNH
419 7	DR591	FYLYCPYPEMSSHCVLRA	421 4	DR511 3	TEYPCKVYMTCMWPI
419 8	DR592	LRADCKVVLTERCSNYL	421 5	DR511 4	LGPNCIVLTERCGNSL
419 9	DR595	HENPCQVYMTCRHLD	421 6	DR511 5	SERPCGERPVVMTFCFVR
420 0	DR596	SAEECFVILTCLGSR	421 7	DR511 6	GSFSMRWDCGDNPIGR RQCVIM
420 1	DR597	ARQDCVPVMRWHCWAEI	421 8	DR511 7	GSAQLLWDCGDNPIGR RQCVKL
420 2	DR598	PPLGCTRIALTCWDIR	421 9	DR511 8	GSYTHTFDCGDFNITGR RQCVKL
420 3	DR599	QPPECRVIMTLRCGDAW	422 0	DR511 9	GSLSSQFDCGENPILGR RQCLYL
420 4	DR510 0	PKQACKIIMTERCWAVD	422 1	DR512 0	GSRAQIWDCGDNPIRG RQCVKL
420 5	DR510 1	TVGECMPIMTCFSTN	422 2	DR512 1	GSIHIPPRCTEEDVIMTC RRSAD
420 6	DR510 2	WHYPCQPVLTCRSHT	422 3	DR512 2	GSSTFPRFCAEEDVIMTC RRWRFD

422 4	DR512 3	GSNAIPRHCTEEDVIMTCR LRPS	424 1	DR514 0	GSWKWSPTCAEEDVIMTC RKHVK
422 5	DR512 4	GSAEFHRPCGEEDVIMTC RWRVH	424 2	DR514 1	GSKSVPRLCSEEDVIMTCK RGVF
422 6	DR512 5	GSNALPRACDERDVIMTC RKSVA	424 3	DR514 2	GSEYWQPPCAEEDVIMTC KWRVV
422 7	DR512 6	GSYDFPRTCAEEDVIMTC KWRIS	424 4	DR514 3	GSLCLPRHCAENEVIMTC RPLMF
422 8	DR512 7	GSIPSRFDCGENPIAGRQ CVEL	424 5	DR514 4	GSLMSQWDCGDNPILGRR QCVKL
422 9	DR512 8	GSQYIHMDCFENRIRGYC HCKM	424 6	DR514 5	GSFKTIWDCGDNPIPGRR MCVKL
423 0	DR512 9	GSILIPRTCAQEDVIMTCR ERAY	424 7	DR514 6	GSSSITWDCGDNPIPGRRQ CVIH
423 1	DR513 0	GSQGLPRPCGEEDVIMTC RWSGY	424 8	DR514 7	GSPRFKWDCGDNPIAGR QCVLL
423 2	DR513 1	GSDSFTRTCTEDAVIMTCK WRVL	424 9	DR514 8	GSSGFPHHCGEEDVIMTC RWRGL
423 3	DR513 2	GSDPSPRTCAEEDVIMTCR WQVY	425 0	DR514 9	GSPHFPRCAEEDVIMTCR WRVI
423 4	DR513 3	GSSMITRPCAEEDVIMTCK WLPI	425 1	DR515 0	GSGWHTRFCAEEDVIMTC KWRVI
423 5	DR513 4	GSGYNPRLCSEQDVIMTC RLRFG	425 2	DR515 1	GSDHWRRSCSEDDVIMTC RWRVS
423 6	DR513 5	GSFDRNWDCGDNPIKGRR QCVKV	425 3	DR515 2	GSFKVPHLCAEEDVIMTC RWRVY
423 7	DR513 6	GSTYMQFDCGDNPIPGRR QCVPL	425 4	DR515 3	GSRSSPHPCGEEDVIMTCR WRIT
423 8	DR513 7	GSFVSHWDCGENPIIGRRQ CVLL	425 5	DR515 4	GSVLQVCDCLDIPVFGTC QCVQL
423 9	DR513 8	GSPPHSRPCAEDVIMTCR YRIY	425 6	DR515 5	GSGDSHWDCGDNPILGRR QCVKL
424 0	DR513 9	GSLDRPRPCAEDVIMTCR WRAA	425 7	DR515 6	GSTSM LWDCGANPIKGRR QCVLL

425 8	DR515 7	GSMPYSWDCGDNPIVGRR QCVKV	427 5	DR517 4	GSLSPWDCGDNPILGRR QCVLL
425 9	DR515 8	GSFTSRWDCGNNLVIGQR QCIKL	427 6	DR517 5	GSAAHYWDCGDNPIVGR RQCVKL
426 0	DR515 9	GSSAPGFDCGDNPIVGQR QCIKL	427 7	DR517 6	GSYLYPRPCSEEDVIMTCR WRVS
426 1	DR516 0	GSMVGQRPCAEEDVIMTC RWRVV	427 8	DR517 7	GSSSFTPTCNEEDVIMTCR WRVV
426 2	DR516 1	GSSLLPRNCSEEDVIMTCR WRVD	427 9	DR517 8	GSLAPPTCAEEDVIMTCR WRLK
426 3	DR516 2	GS GTTPRRCAEEDVIMTC RWSAH	428 0	DR517 9	GSRNFPVPCDESDVIMTCK WRVS
426 4	DR516 3	GSSYSRPRCAEEDVIMTCR PRFH	428 1	DR518 0	GSDRFQRHCSEADVIMTC KSRLY
426 5	DR516 4	GSGVFPRPCHEEDVIMTCR WRVH	428 2	DR518 1	QGSDEWDCLDNRIGKRQC VKL
426 6	DR516 5	GSADPLWDCGDNPIKGRR QCVPL	428 3	DR518 3	GSSSFPRPCAEEDVIMTCK WRVY
426 7	DR516 6	GSLPHAWDCGDNPIPGRR QCVKL	428 4	DR518 4	GSMLLPRSCAEEDVIMTC RWAHY
426 8	DR516 7	GSTKLTHPCGEEDVIMTC RWRVA	428 5	DR518 5	GSGKCTEEDVIMTCRSKV T
426 9	DR516 8	GSTASPRHCAEHDVIMTC RWPVD	428 6	DR518 6	GSSHFPHPCSEEDVIMTCR WRVN
427 0	DR516 9	GSERLARSCDEDDVIMTC RWRVT	428 7	DR518 7	GSVDFPRPCLEDDVIMTC KWRLY
427 1	DR517 0	GSNKPPRPCSEEDVIMTCR WRVV	428 8	DR518 9	GSVLDILSCKCLDTSSHVQ CVTL
427 2	DR517 1	QGSDEWDCLDNRIGRRQC VKL	428 9	DR519 0	GSRMSSPSFDCKGDFGHR QCVKL
427 3	DR517 2	GSSLSSWDCGDNPIPGRRQ CVKL	429 0	DR519 1	GSGEPSDGRVCLTKCSSLI QCFKF
427 4	DR517 3	GSPSEYWDCGDNPIFGRR QCVRL	429 1	DR519 2	GSHCLYVWECVDHGICL RRCAEL

429 2	DR519 3	GSNNTTSMWDCLDRPIGQ RQCVKL	430 9	DR521 2	GSCTGVLTQACPAQNSFL QCVEL
429 3	DR519 4	GSYWSFSKWDCDRPLGQ RQCVLL	431 0	DR521 3	GSSNFESRWDCIGNVGS RQCVKL
429 4	DR519 5	GSPTVPNQCHCQDNRISR MCVIL	431 1	DR521 4	GSHNHYDDQVCLTQCNN LRLCIEL
429 5	DR519 6	GSDKFRERWDCLDYRIGH RQCIKL	431 2	DR521 5	GSQAPNIESLCLTRCVNLL HCKI
429 6	DR519 7	GSMTDDDRVCLTTCSVL RQCIKL	431 3	DR521 6	WDCLDRPLGQRQCVLL
429 7	DR519 8	GSDLFSSRWDCGKLGQR QCVKL	431 4	DR521 7	FDCKGDFGHRQCVKL
429 8	DR519 9	GSQLLTFGWDCDRPIGQ RQCVKI	431 5	DR521 9	WDCLDRPIGQRQCVKM
429 9	DR520 0	GSGDEHAYWDCLDRPIGQ RQCVKM	431 6	DR522 0	WDCLDYRLGQRQCVKV
430 0	DR520 1	GSSGFYERWDCLDHHIGR RQCVKL	431 7	DR522 1	WDCLDRPIGQRQCVYL
430 1	DR520 3	GSMKVTGPWDCLDRPIGQ RQCVYL	431 8	DR522 2	WDCVGKPGHRQCVKL
430 2	DR520 4	GSLPDTYLTNCIHNHRDLC LCSKH	431 9	DR522 3	WDCLDYRIGHRQCIKL
430 3	DR520 5	GSRSSMPSVCLTDCISLR QCVKL	432 0	DR522 4	WDCIGNVGSQRQCVKL
430 4	DR520 6	GSSNSMEPRVCLTNCTAL RMCACL			
430 5	DR520 7	GSRIDLSQWDCLDYRLGQ RQCVKV			
430 6	DR520 9	GSIGHSRWDGKPGHR QCVKL			
430 7	DR521 0	GSQLLTSMFDCGDRPMGR RQCVLV			
430 8	DR521 1	GSPHTATRVCLTDCLSLR KCLKM			

Таблица 22
Связывающие CD3 домены MRD

SE Q ID:	Иденти фикаци онный номер	Пептидная последовательность
432 9	CD32	FDLLCVHVESHKYYCFRPI
433 0	CD34	FILSCHWHNGVVRCEVS
433 1	CD38	PPFSCVFDVPIWSWVCGQKS
433 2	CD311	AQLLCHHVTGKYFSCREVI
433 3	CD317	DWWLCESEKQTFWCSILR
433 4	CD318	RGMQCHFEKTGWMWVCSLAG
433 5	CD323	FMMQCQYVMNGIYCYDSG
433 6	CD324	FRLGCVPLPVIQACVAQA AAGGSKIWECEQNPQVW ICNLTS
433 7	CD326	PKLLCHDTEDIYCFCELLK
433 8	CD328	LFGRCYLYHNLAWYHCVLVW
433 9	CD329	IGLLCKKDHGEWSCFRIY
434 0	CD330	FMVDCQKMPHYICAER G
434 1	CD331	EWQCAYYPQYFQWQCEILG
434 2	CD332	GPPWCMWHQRQYSWICIFGE
434 3	CD335	IAWDCQWHHQWHAWEC TMNS
434 4	CD337	WDAVLCVNKRCSGLYF
434 5	CD338	TVVRCYQSPYVYWICKFPT
434 6	CD340	FSVICWQKPDYLYCAEDA
434 7	CD341	RTVYCGWDANRQAWLCHCQN
434 8	CD342	PGFRCSWWEIAKSWVCTMPV
434 9	CD343	DLLDCSFNEFEWHWTCSFTQ
435 0	CD345	PLVSCQYFPPLHHWRCDFLV
435 1	CD347	DKWKCRWKEAYICMRDS
435 2	CD348	YRLSCQYLSAHQVICSGLW
435 3	CD349	RWAYCSVQDIMWDCTLFP
435 4	CD354	TMITCHWRKDHWDWMCQLEY
435 5	CD356	FILSCHWNLGVVPCYEVS
435 6	CD357	PVMSCEPIPIGWKCSLQT
435 7	CD360	FSPECHYFPGYWKCTWSL
435 8	CD361	WPQRCVWWWEMDYKCRSLI

435 9	CD365	TYWDCVVGHKHMQLR LS	437 6	CD3433	NHWFCFTDWHHFVCFKF A
436 0	CD367	SRGWCQYEQHSQWRCF IHE	437 7	CD3435	CWVSCWIWPNMWYCWL DC
436 1	CD368	RLVSCSWENSKWQWTCS VLE	437 8	CD3436	GVGGLLLGSVRTGSLPPG VGPG
436 2	CD369	PDSSCHTLYWQLHHCAR RE	437 9	CD3438	YAAWCFKLNKLEVICFSG I
436 3	CD370	GQVTCNYPATHSWVCS CIS	438 0	CD3439	ARFVCFSLVEAQWYCLV LS
436 4	CD3309	TVFRCVVFVNEYRVWFCHI ST	438 1	CD3440	IYFTCVWYAQQFWCIVM P
436 5	CD3318	GEEVCYWAPFEPVRCLP VW	438 2	CD3444	RGWVCYFFPPHFVCYT V
436 6	CD3323	VFMVCVHHYEKVKCWA FW	438 3	CD3446	FSLVCIQMYNQVYCVFIL
436 7	CD3324	FFALCKFQNFHTATCLKL I	438 4	CD3447	QDFLCVKIEFPFWICWTM Q
436 8	CD3354	WSFLCIKVTQQHYECFLF S	438 5	CD3448	FTCVCYQHYDHFWSGCL W
436 9	CD3364	GLVSCVILPQGWFCFKTA	438 6	CD3449	ILWACVKQYDGMICWSP S
437 0	CD3366	QVKYCVVTHMMCVIDL	438 7	CD3450	FWLLCIHAPKQDVCFIW M
437 1	CD3399	RSALCHDKMTVKSYSCLS SR	438 8	CD3453	FRALCWEHPPTRYCILFT
437 2	CD3412	IFFVCPNNQYDCAVNH	438 9	CD3454	TAWWCVIMPPKFFCASF N
437 3	CD3430	WNFFCITFGPYLHCWIYT	439 0	CD3455	GRVSCYWETHLNVVCVP SL
437 4	CD3431	TMEVCYWGPFTTATCER WP	439 1	CD3457	IKLECKVHAPSMLSCTLW Q
437 5	CD3432	WECYCQGHVHYIYCVCF R	439 2	CD3458	YEWSCLITPYGHWCAQT V

439 3	CD3459	FTLLCIKFELKPYICWVSL	441 0	CD3490	PLMLCRHMKHFQYYCW PLA
439 4	CD3461	TPRGCTFIFIMPDMCRPSL	441 1	CD3491	PSQRCVNHFVIFNCTQS N
439 5	CD3462	LRCTCWIFPKNVYCLCLS	441 2	CD3492	WNFFCITFSPTCIVDLYW PG
439 6	CD3463	AFLRCYAQECVILWL	441 3	CD3493	WTMRCYSHAPNKLVCSSV GL
439 7	CD3465	GMVSCVIMPQGWFCFKT A	441 4	CD3494	LVLHCDYQQGVWTCKA VL
439 8	CD3466	MHWVCIIFFPPGFFCVSTF	441 5	CD3495	VMFVCFSLPEQQVCVPLS
439 9	CD3470	LHFRCFQLYNEYWVCIM SV	441 6	CD3689	PVQICQWTLELQCSPWT
440 0	CD3474	WNFLCFFTHHKPVWYCV WTM	441 7	CD3690	LQWVCHWVAECMSMP
440 1	CD3475	GFQCWC PHVVCFRVPY	441 8	CD3693	RGFICEWNLVASCVPAT
440 2	CD3477	MQFLCLTVQNTWYCF WL	441 9	CD3694	RIWICDWTIECVESL
440 3	CD3478	FIVRCVIGQKLVCVQTE	442 0	CD3697	FVCECFAWDWFGPWQC MCSV
440 4	CD3479	WSPNCLWFIKTTYVVCP DST	442 1	CD3700	RFWIECWTEACRPGLLG QAGQGGPGSAGGSYPSIE CYSYMCNVLWF
440 5	CD3480	YAWECQWIVKPHQFVCG GM	442 2	CD3703	LRSSCEYHQTQSSQAA AGGSREMKCDWRVDCL YYV
440 6	CD3481	GTLRCYSLNWGYFCILFV	442 3	CD3704	TLTVCQWVLHATCVDVQ
440 7	CD3482	NKVECHIVLWTFHFGCPS AT	442 4	CD3706	VSIRCHQYLLCVFES
440 8	CD3483	TSMVCRSMHMYWLCVN LD	442 5	CD3707	SAWFCEWTFQCQLMG
440 9	CD3487	NRVLCMMNYIHVTKLCD RPM			

442 6	CD3708	GFIVCYWEAVCQSST	444 3	CD3959	GRVSCYWETHLNVVCVP SL
442 7	CD3709	VLWRCTWVMECVSVS	444 4	CD3960	FPCVCIMTHHHLECFCFG Q
442 8	CD3718	DMWLCHWRIECPYL	444 5	CD3972	FSLVCIQMYNQVYCVFIL GQ
442 9	CD3724	PWASCYFYQEHVHCLPP D	444 6	CD3981	ILWACVKQYDGMICWSP SGQ
443 0	CD3743	SYSVCEWEFVYSCWPPY	444 7	CD3992	VKLPCFLIQEMGWMCFW PL
443 1	CD3789	RQQPCLKIWSCLQLY	444 8	CD3998	WNFFCINFSPYLHCWIYT GQ
443 2	CD3793	PVQICQWTLELPCSPWT	444 9	CD3100	MYVLCKEAQVGQQWKC VQFF
443 3	CD3832	PVPICPWTLELHCPPWTG HA	445 0	CD3101	YTPECGWGYMIMFKHCR HYE
443 4	CD3872	MACLCVSWSKCTPLG	445 1	CD3102	FWLLCLHVWNKTTVYCL VKH
443 5	CD3882	QTMKCPMEMGHCTTWR	445 2	CD3103	FQCVCVHWNDGRVVCL CHY
443 6	CD3912	FILLCHQYLVCIKQE	445 3	CD3103	DYTSCQFRGWLICEAMA
443 7	CD3919	FYMRDCLSHRCRLDLS	445 4	CD3103	LVMLCWKWHEVRHCLL LS
443 8	CD3924	GFQLACRFMSCGCRSC	445 5	CD3103	VVLTCSWERSVFVCRL VE
443 9	CD3935	PLMLCRHMKHFEYYCWP L	445 6	CD3104	LAFLCIHWQEHLWCIVRP
444 0	CD3940	QDFLCVKIEFPWICWTM QGQ	445 7	CD3104	SVVTCYHMFWDRIICFL Q
444 1	CD3942	IYFYCVIEWYQKWICYTV V	445 8	CD3105	TVRCWCEHMCVCFMERD
444 2	CD3952	VTCFYVETDHSVCFREA	445 9	CD3105	CHFLCFKLGFMIFYCEY SC

446 0	CD3105 8	VMLACYKHPLNNSEWCY ILP	447 7	CD3124 9	ESLDCATPLLLCTGCGDQ A
446 1	CD3106 3	FRVLCADVPGHRYCFIVS	447 8	CD3125 4	SFQMCMGWFWWCWSHS
446 2	CD3106 8	LVFRCLHITQHWFCFGLT	447 9	CD3125 5	WSQSGCTYAHCMYCIH
446 3	CD3107 7	EYDSCMFYGFIIKPKQT	448 0	CD3142 0	VNCWLHLQFFYSEQYCIE
446 4	CD3107 9	MLFVRCEHGRCTVYEI	448 1	CD3156 7	ATGGSLVVKCDWWLDC LVYL
446 5	CD3108 6	CEIFCMVSLETQKMVCV HRA	448 2	CD3157 9	DLQICHWTLELECSPRK
446 6	CD3112 0	MGFLCWSQPGNEYEWC VPIN	448 3	CD3160 5	ATGGSREIRCKWRVDCM CYS
446 7	CD3113 8	RFIHCVHFEWINHIVCFV GT	448 4	CD3163 1	SLSSCELYYKCRHFSQAG QGSATGGSLVVKCDWW LDCLVYL
446 8	CD3116 2	QDFLCVKIEFPWICWTM Q	448 5	CD3164 4	LRCFCDYQTCKQYTV GQGSATGGSREIRCKWR VDCMCYS
446 9	CD3116 5	DRALCWLHPHFATVQCII MS	448 6	CD3165 6	WNYFCVYFSPYLHCWIY S
447 0	CD3117 3	VTCFYVETDHVVCFREA	448 7	CD3166 3	WNFVCIFVSPYMHCWLY F
447 1	CD3117 9	GRVSCYWETHLNVVCVP SL	448 8	CD3169 7	WKFLCINLSPYLHCWIYP
447 2	CD3118 0	FPCVCIMTHHHLECFCFI	448 9	CD3171 8	WNFFCIYISPHVHCWIHS
447 3	CD3119 0	FSLVCIQMYNQVYCVFIL	449 0	CD3172 7	IAWDCVVGQKYMLCQRL S
447 4	CD3119 9	ILWACVKQYDGMICWSP S	449 1	CD3180 3	CQERCGKMIKSIVMQCN LRL
447 5	CD3121 1	ADSWCHTLYWNLRHCEI QE	449 2	CD3190 9	SVSVCVEHAYGQWYCFA AR
447 6	CD3121 7	WNFFCINFSPYLHCWIYT			
449 3	CD3191 5	TMKCPMEMGHCTTWR			

Хотя настоящее изобретение было описано со ссылками на приведенные выше примеры, следует понимать, что в сущность и объем настоящего изобретения входят модификации и варианты. Соответственно, настоящее изобретение ограничено исключительно приведенной ниже формулой изобретения.

По указанной заявке испрашивается приоритет в соответствии с §119(e) раздела 35 Кодекса США (35 U.S.C. §119(e)) по предварительным заявкам № 61/489249, поданной 24 мая 2011 г.; № 61/597714, поданной 10 февраля 2012; и № 61/610831, поданной 14 марта 2012 г.; каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. Дополнительно в настоящий документ полностью включено посредством ссылки описание опубликованной заявки на патент США № 2012/0100166.

Все цитируемые публикации, патенты, патентные заявки, интернет-сайты и номера доступа/базы данных последовательностей (включающие как полинуклеотидные, так и полипептидные последовательности) включены в настоящий документ посредством ссылки полностью и для всех целей, в той же степени, как если бы каждая индивидуальная публикация, патент, патентная заявка, интернет-сайт или номер доступа/база данных последовательностей были специфически и индивидуально указаны как включенные посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Комплекс, содержащий антитело и по меньшей мере один модульный домен распознавания (MRD), при этом указанный по меньшей мере один MRD содержит пептид, обладающий способностью связывать ангиопоэтин-2 (ANG-2), при этом указанный пептид содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 626, а указанный комплекс способен связываться с мишенью указанного антитела и ANG-2.

2. Комплекс по п.1, отличающийся тем, что указанное антитело связывает мишень, выбранную из группы, состоящей из: ФНО (TNF), ФРЭС (VEGF), рФРЭС-1 (VEGFR1), рЭФР (EGFR), ErbB2, рецептора ИФР-1 (IGF-IR), сМЕТ, рФРФ-1 (FGFR1), рФРФ-2 (FGFR2) и CD20.

3. Комплекс по п.2, отличающийся тем, что указанное антитело связывает TNF.

4. Комплекс по п.3, отличающийся тем, что указанный MRD способен связывать ANG-2 и указанное антитело способно связывать TNF одновременно.

5. Комплекс по п.3, отличающийся тем, что указанное антитело выбрано из группы, состоящей из адалимумаба, голумимаба и инфликсимаба.

6. Способ ингибирования роста клетки *in vitro*, который включает приведение в контакт указанной клетки с комплексом по любому из пп.1-5.

7. Применение комплекса по любому из пп.1-5 при изготовлении медикамента для ингибирования ангиогенеза у пациента.

8. Применение комплекса по любому из пп.1-5 при изготовлении медикамента для лечения пациента, у которого присутствует рак.

9. Применение комплекса по любому из пп.1-5 при изготовлении медикамента для лечения пациента, у которого присутствует воспалительное расстройство.

10. Применение по п.9, отличающееся тем, что указанное воспалительное расстройство представляет собой аутоиммунное заболевание, воспалительное заболевание кишечника или артрит.

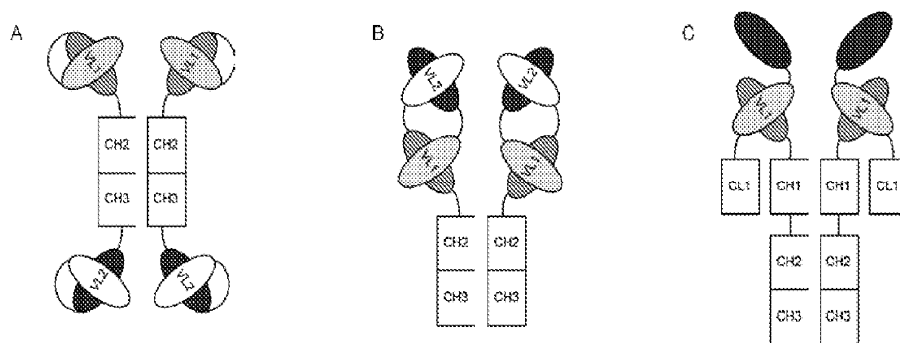
11. Способ ингибирования ангиогенеза у пациента, который включает введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества комплекса согласно любому из пп.1-5.

12. Способ лечения пациента, у которого присутствует рак, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества комплекса согласно любому из пп.1-5.

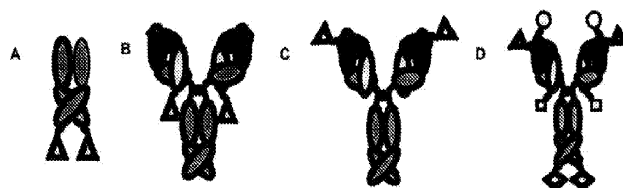
13. Способ лечения пациента, у которого присутствует воспалительное расстройство, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества комплекса согласно любому из пп.1-5.

14. Способ по п.13, отличающийся тем, что указанное воспалительное расстройство представляет собой аутоиммунное заболевание, воспалительное заболевание кишечника или артрит.

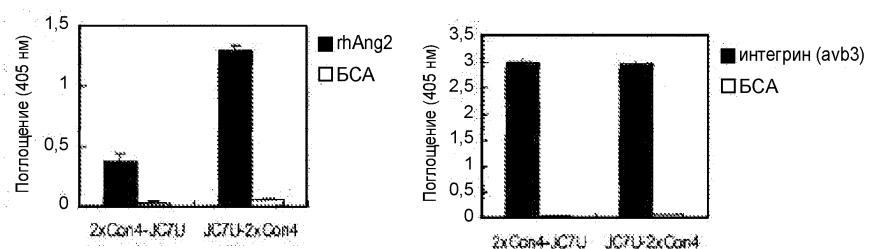
15. Фармацевтическая композиция, содержащая комплекс по любому из пп.1-5 и один или более фармацевтически приемлемых носителей, вспомогательных веществ и/или стабилизаторов.



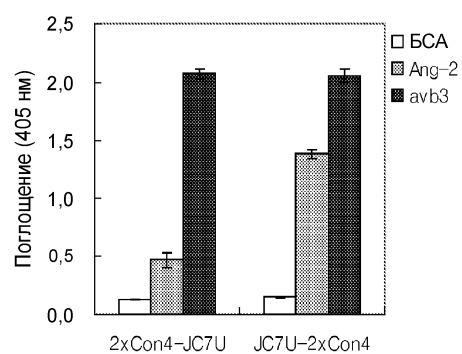
Фиг. 1



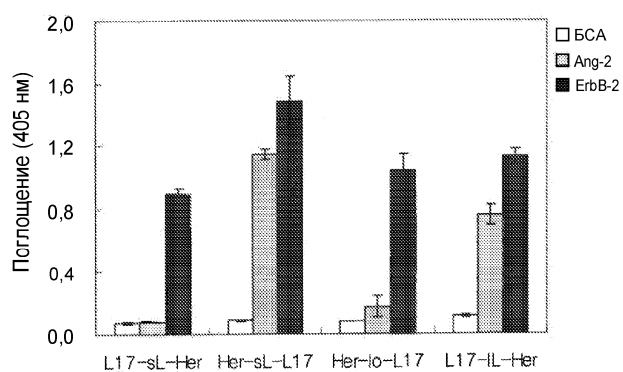
Фиг. 2



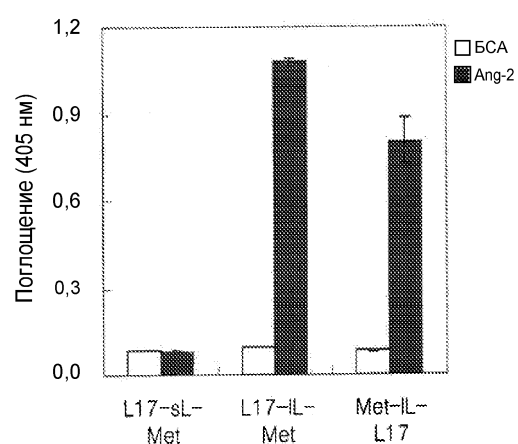
Фиг. 3



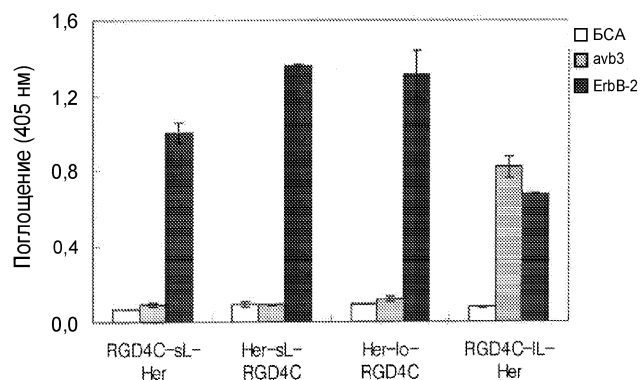
Фиг. 4



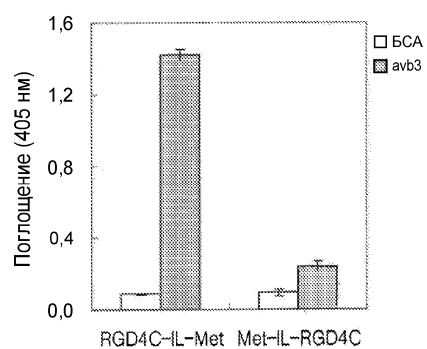
Фиг. 5



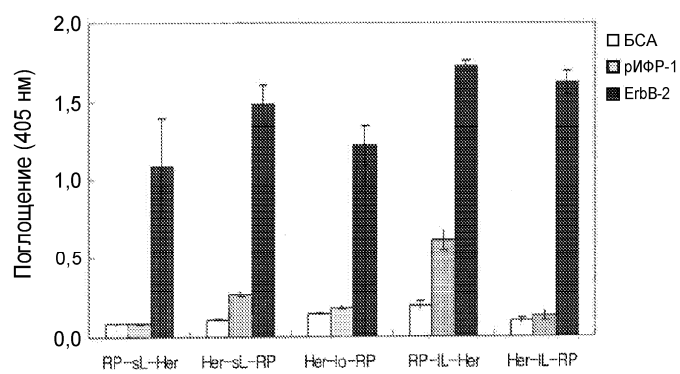
Фиг. 6



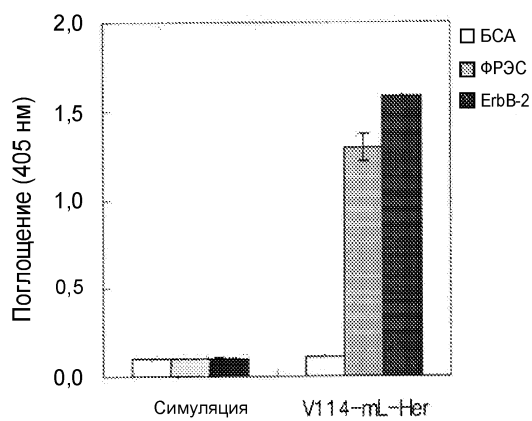
Фиг. 7



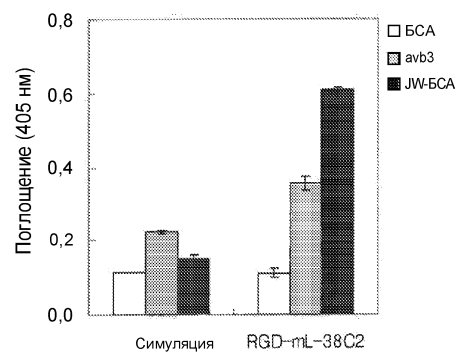
Фиг. 8



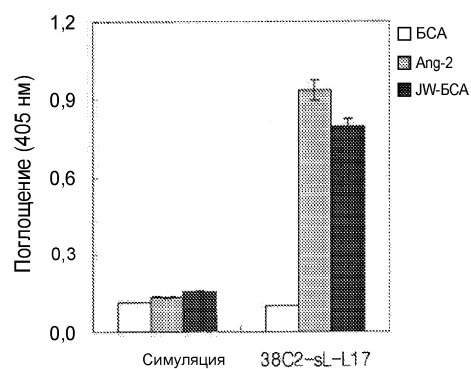
Фиг. 9



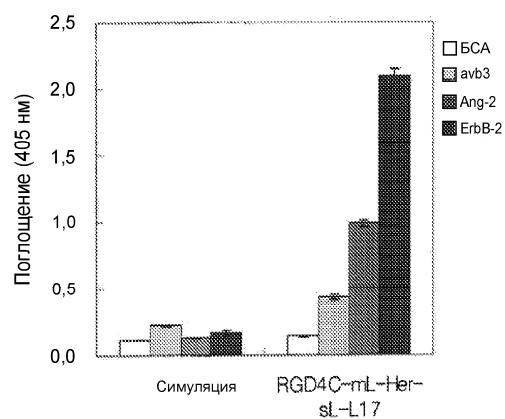
Фиг. 10



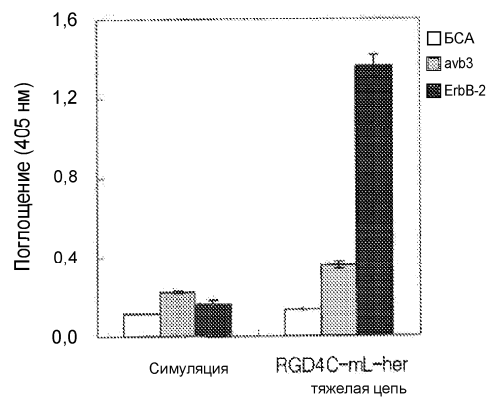
Фиг. 11



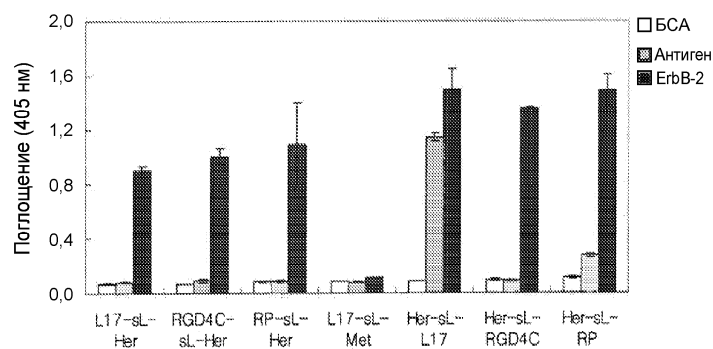
Фиг. 12



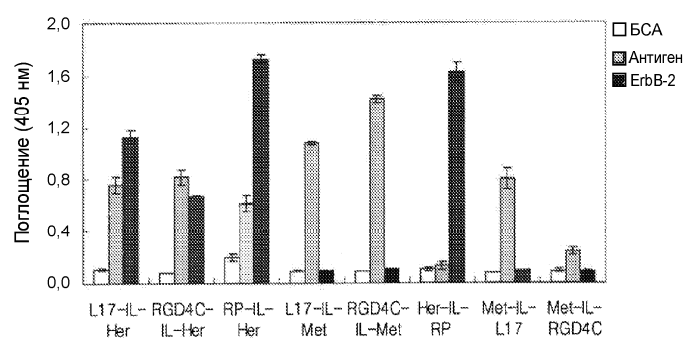
Фиг. 13



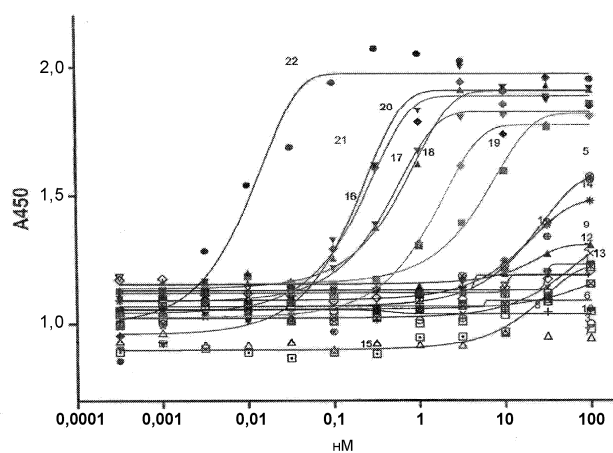
Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16



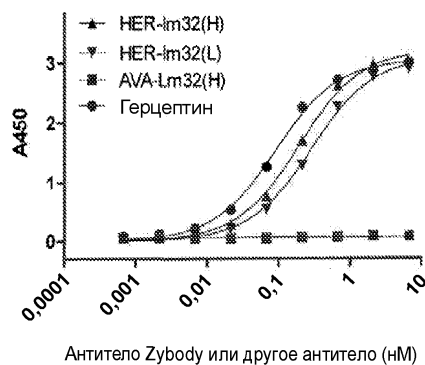
Фиг. 17A1

1 ▽ L17D MQD 5 ● L17D MED 9 ▲ L17D MYD 13 ◇ L17D MVD 17▲ L17D MGD 21 ▾ L17D DD 5/7
 2 ▽ L17D MPD 6 ▩ L17 MID 10○ L17D MFD 14 * L17D MHD 18* L17D MSD 22 • 2xLm32 4/23
 3 □ L17D MWD 7 ▲ L17D MLD 11 ● L17D MFD* 15 ▩ L17D MRD 19 ▨ L17D MTD
 4 ▩ L17D MMD 8 + L17D MKD 12 × L17D MAD 16 ▽ L17D MND 20* Lm32 KtoS

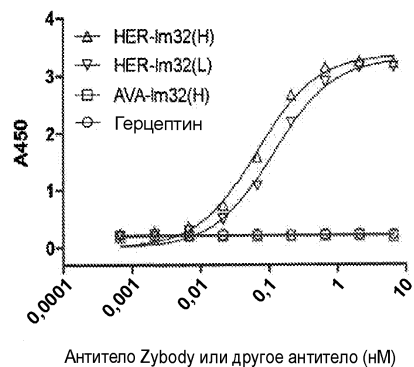
Фиг. 17A2

Белок	ID клонa	Последовательность MRD	EC50, нМ
L1-7D MDD	ZC12	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:114)	0,153
L1-7D MQD	1A12	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:115)	>100
L1-7D MVD	2A1	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:116)	>100
L1-7D MHD	3C3	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:117)	17,00
L1-7D MND	4H4	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:118)	0,411
L1-7D MKD	5A8	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:119)	>100
L1-7D MAD	6A3	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:120)	>100
L1-7D MSD	7B2	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:121)	1,380
L1-7D MRD	8B12	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:122)	>100
L1-7D MGD	9C7	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:123)	0,600
L1-7D MTD	10B12	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:124)	7,340
L1-7D MYD	11B10	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:125)	>100
L1-7D MPD	12C12	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:126)	>100
L1-7D MID	13D5	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:127)	>100
L1-7D MFD	14F11	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:128)	>100
L1-7D MWD	15G12	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:129)	>100
L1-7D MLD	16E5	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:130)	>100
L1-7D MED	17F9	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:131)	>100
L1-7D MMD	18E3	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:132)	>100
L1-7D MFD*	14G4*	PGKGGGSMGAQTNFMPMDDEQRLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:133)	>100
Lm32 KtoS	ZC10	PGSGGSMGAQTNFMPMDNDELLYEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:134)	0,199
Lm32 2X	ZC39	PGKGGGSMGAQTNFMPMDNDELLYEQFILQOQGLEGGGSMGAQTNFMPMDNDEL L1YEQFILQOQGLE (SEQ ID NO:135)	0,005

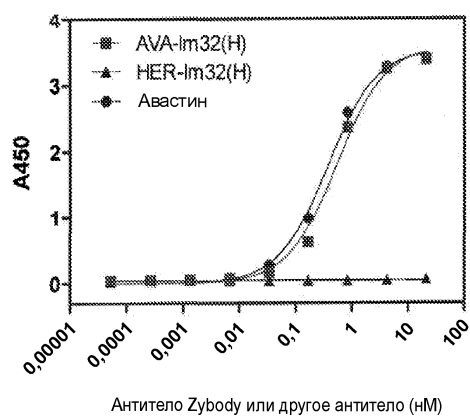
Фиг. 17B



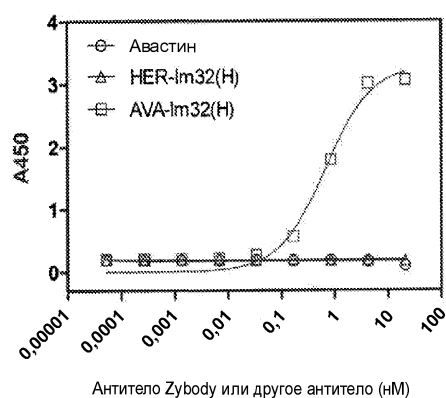
Фиг. 18A



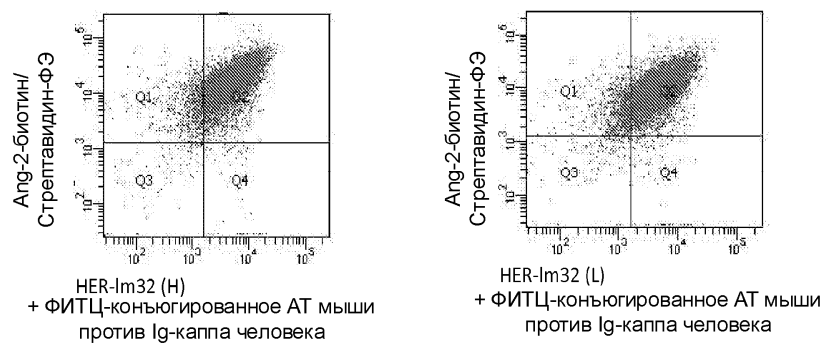
Фиг. 18B



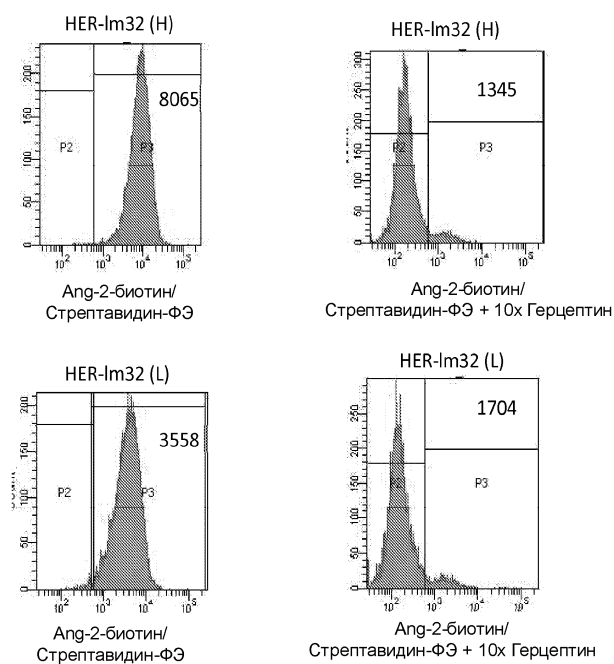
Фиг. 19А



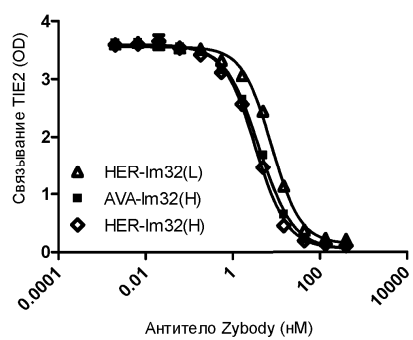
Фиг. 19В



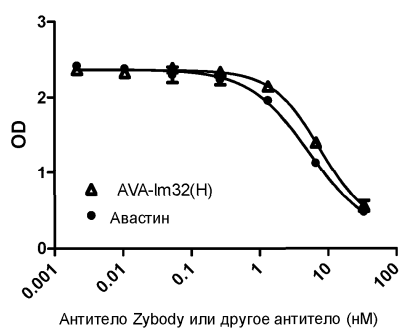
Фиг. 20А



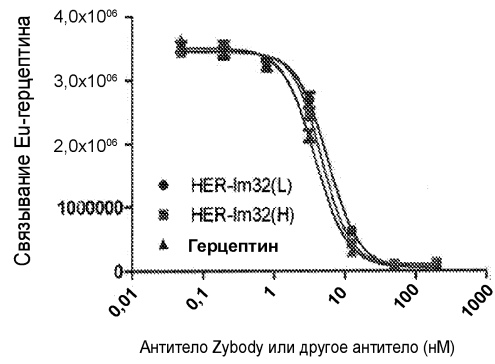
Фиг. 20В



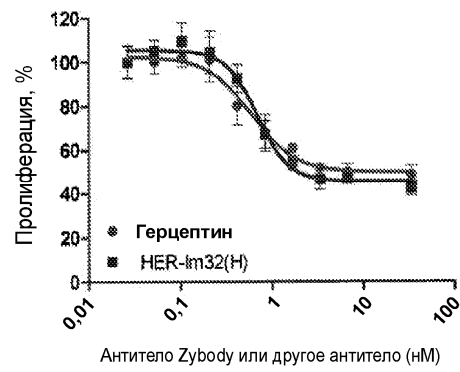
Фиг. 21



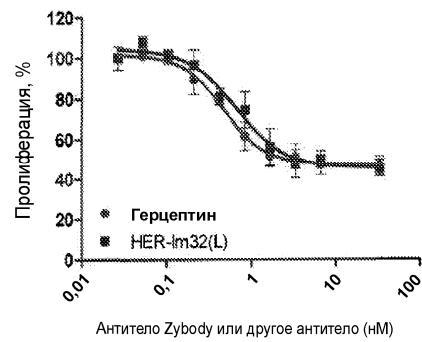
Фиг. 22



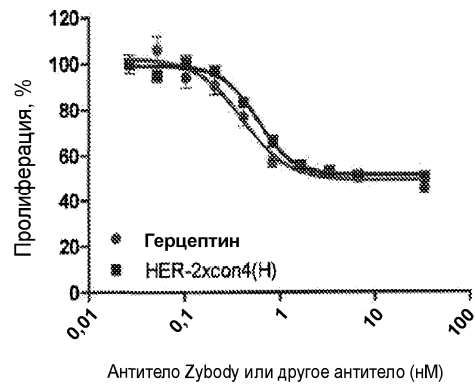
Фиг. 23



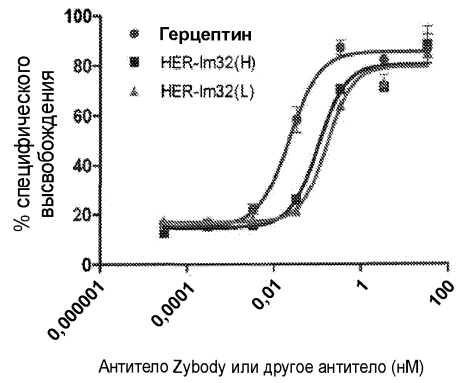
Фиг. 24А



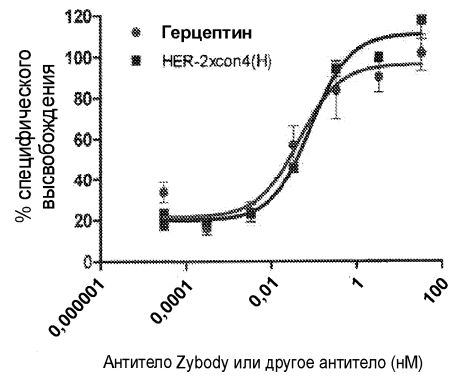
Фиг. 24В



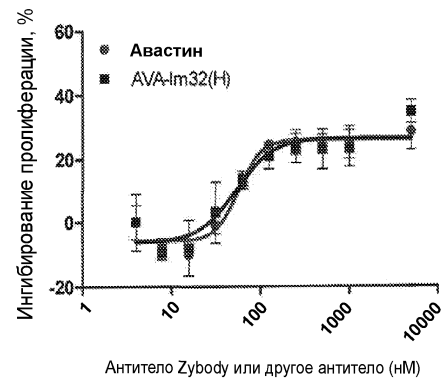
Фиг. 24С



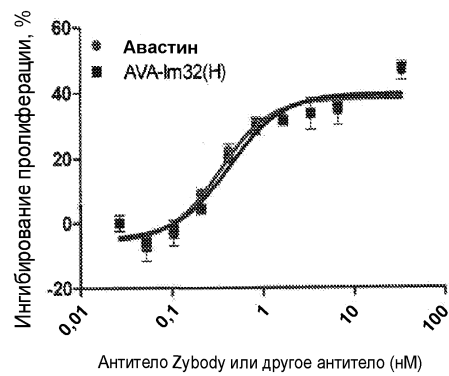
Фиг. 25А



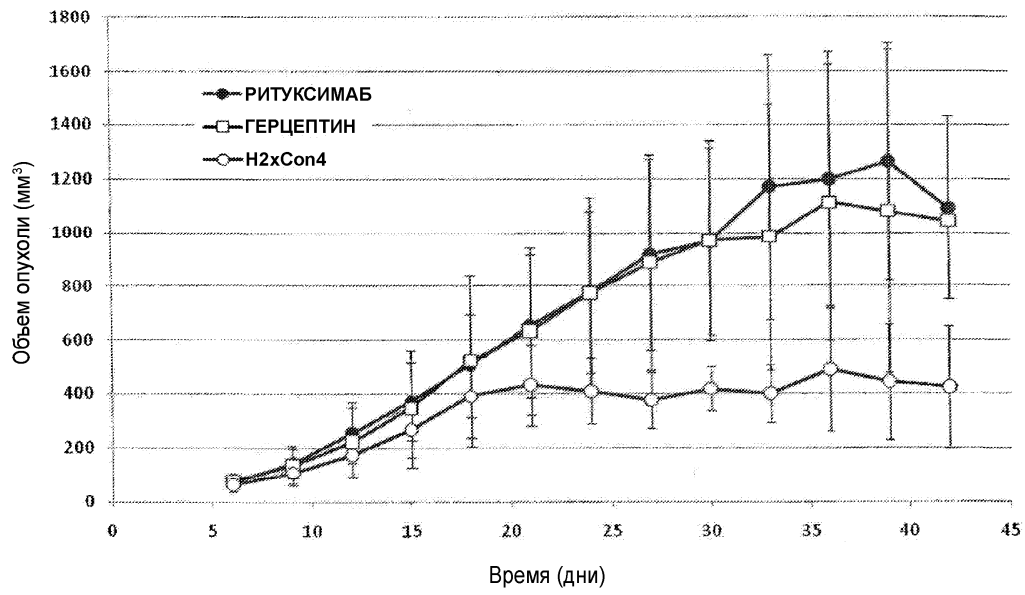
Фиг. 25В



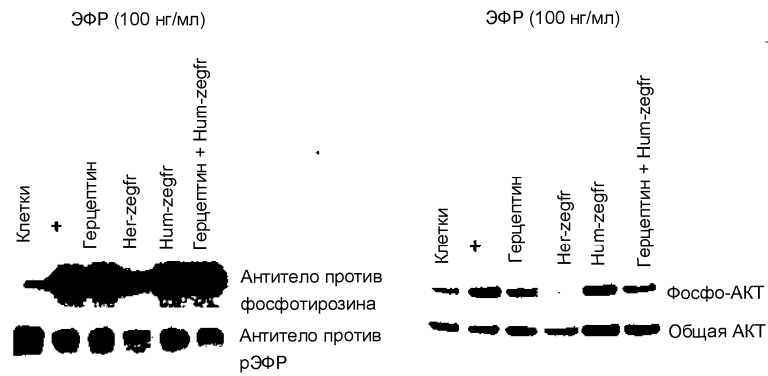
Фиг. 26А



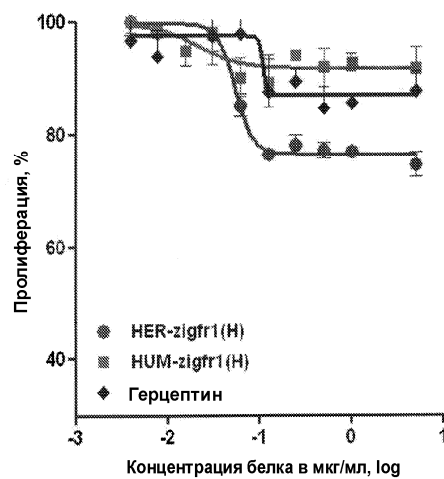
Фиг. 26В



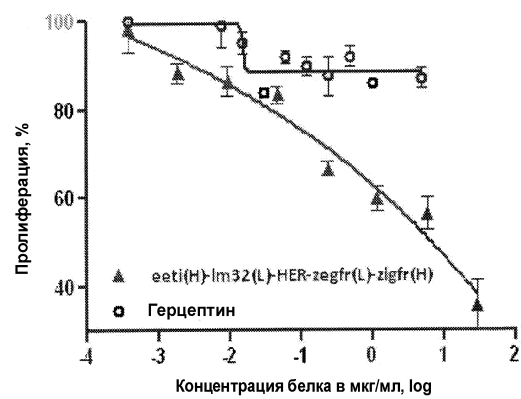
Фиг. 27



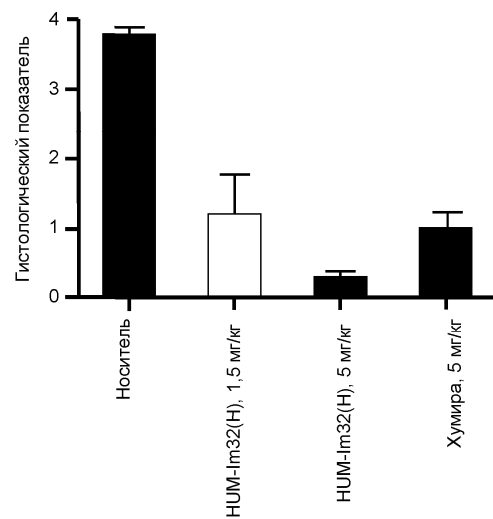
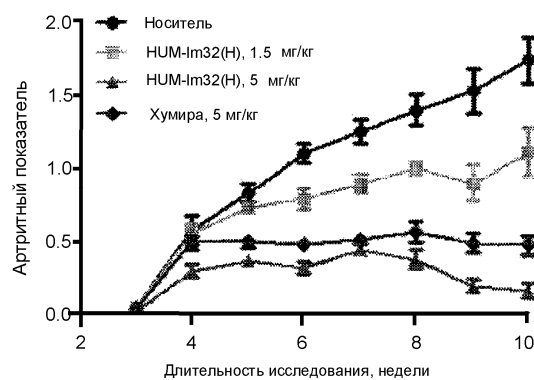
Фиг. 28



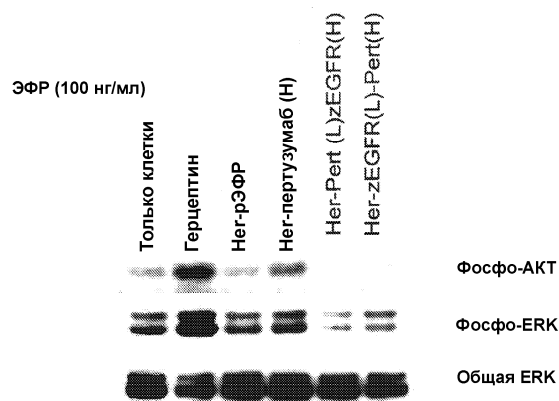
Фиг. 29А



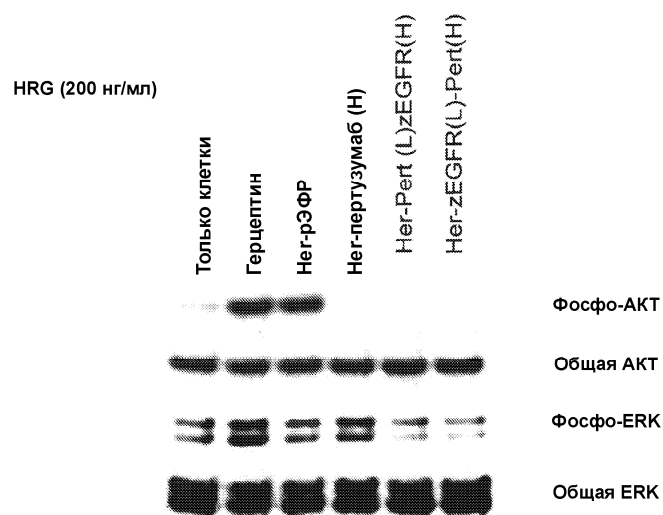
Фиг. 29В



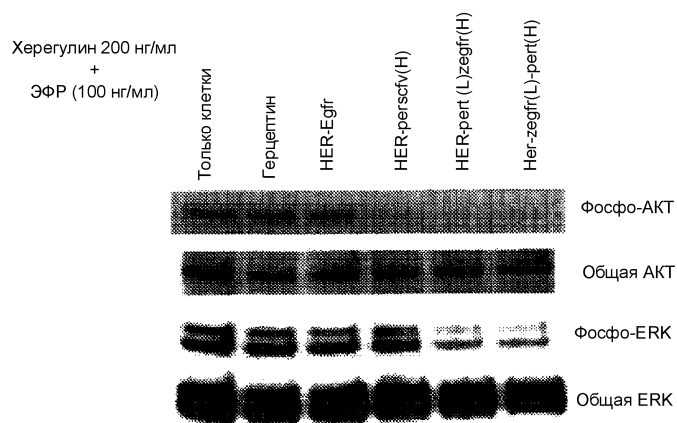
Фиг. 30



Фиг. 31

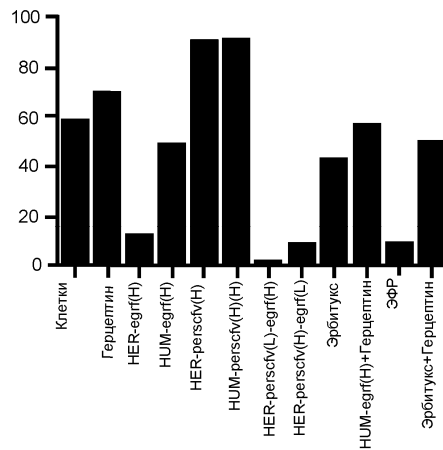


Фиг. 32

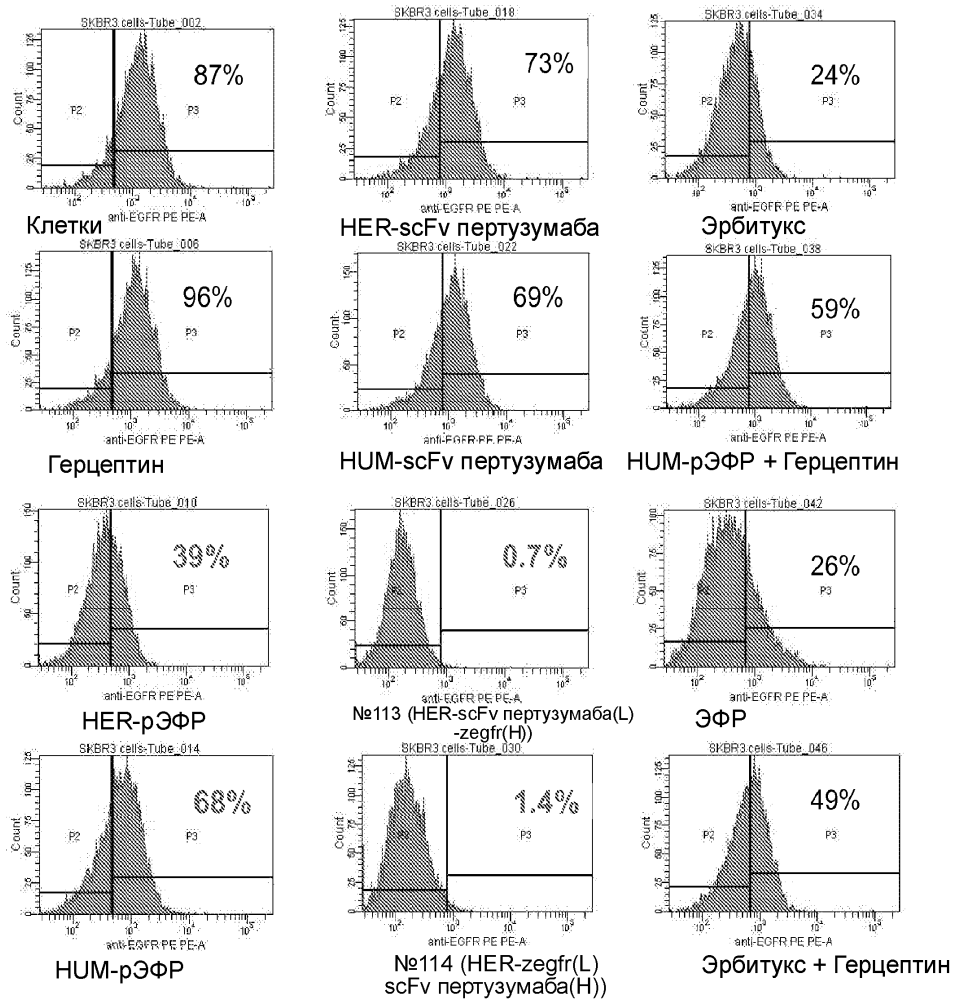


Фиг. 33

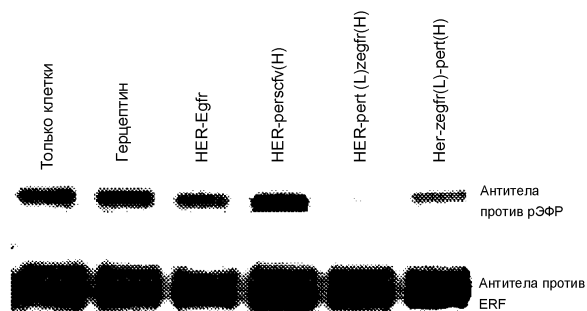
043040



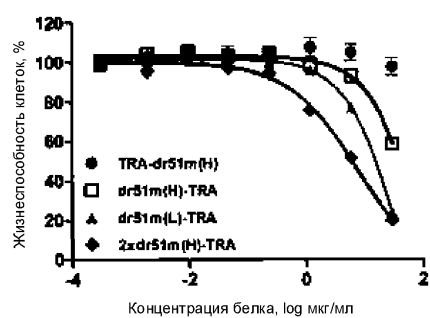
Фиг. 34А



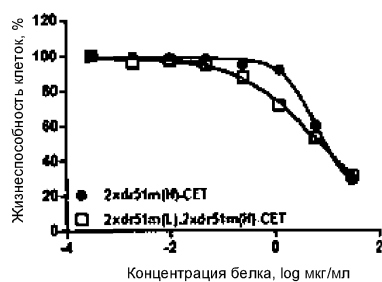
Фиг. 34В



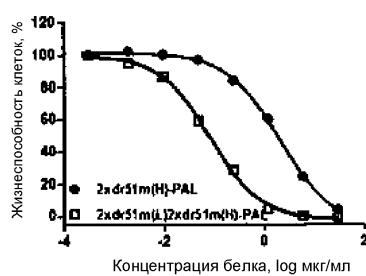
Фиг. 35



Фиг. 36А



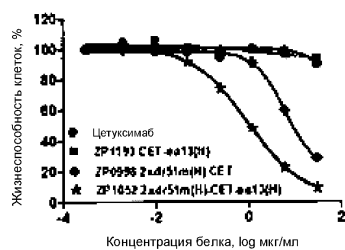
Фиг. 36В



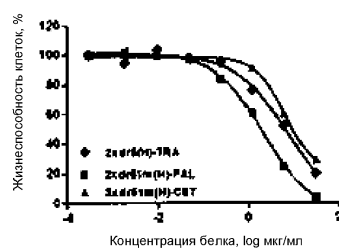
Фиг. 36С



Фиг. 36D

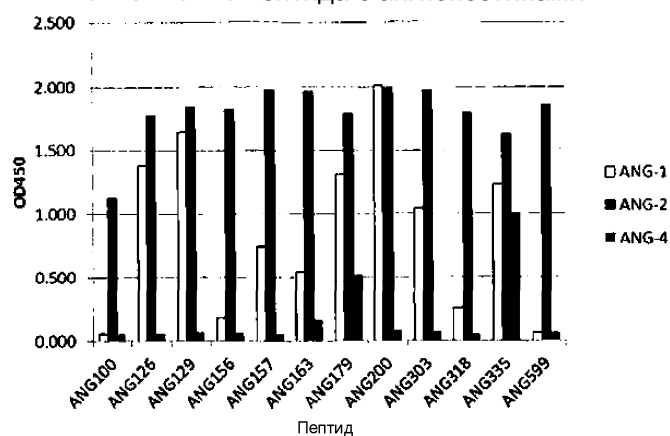


Фиг. 36Е



Фиг. 36F

Связывание пептида с ангиопоэтинами



Фиг. 37



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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