

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202390426** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
2023.05.29

(22) Дата подачи заявки  
2021.07.29

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)  
*C07K 16/46* (2006.01)  
*C07K 16/28* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)  
*A61K 39/00* (2006.01)

---

(54) **БЕЛКИ, СОДЕРЖАЩИЕ АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ ДОМЕНЫ, КОТОРЫЕ СВЯЗЫВАЮТСЯ С HLA-G, И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

---

(31) 63/057,960

(32) 2020.07.29

(33) US

(86) PCT/IB2021/056909

(87) WO 2022/024024 2022.02.03

(88) 2022.03.10

(71) Заявитель:  
ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Обермайер Наташа (BE), Зволяк  
Адам, Лакер Сильви (US), Бремер  
Дирк, Де Ланж Дезире, Хеслер  
Жюльен, Вермиссен Шана (BE),  
Петли Теодор Д. (US), Ван Де Вен  
Келли (BE), И Фан, Сингх Санджая,  
Ганешан Раджкумар (US)

(74) Представитель:

Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,  
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов  
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,  
Кузнецова Т.В. (RU)

---

(57) В изобретении предложены белки, содержащие антигенсвязывающие домены, которые связываются с белком человеческого лейкоцитарного антигена G (HLA-G), антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, кодирующие их полинуклеотиды, векторы, клетки-хозяева, способы их получения и применения.

---

**A1**

**202390426**

**202390426**

**A1**

## БЕЛКИ, СОДЕРЖАЩИЕ АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ ДОМЕНЫ, КОТОРЫЕ СВЯЗЫВАЮТСЯ С HLA-G, И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

5

### ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США с серийным номером 63/057,960, поданной 29 июля 2020 г. Описание каждой из упомянутых выше заявок полностью включено в настоящий документ путем ссылки.

10

### ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Рассматриваемая в данный момент заявка содержит перечень последовательностей, представленный в электронном виде в формате ASCII и в полном объеме включенный в настоящий документ путем ссылки. Копия упомянутого перечня в формате ASCII, созданная 12 июля 2021 г., называется JBI6358WOPCT1\_SL.txt и имеет размер 747 килобайт.

15

### ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

В настоящем изобретении предложены белки, содержащие антигенсвязывающие домены, которые связывают белок человеческого лейкоцитарного антигена G (HLA-G), полинуклеотиды, кодирующие их, векторы, клетки-хозяева, способы их получения и применения.

20

### ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Человеческий лейкоцитарный антиген G (HLA-G) относится к неклассическому семейству белков МНС класса Ib. Описаны семь альтернативных мРНК, которые кодируют четыре мембранносвязанные (HLA-G1, G2, G3, G4) и три растворимые (HLA-G5, G6, G7) белковые изоформы (Carosella et al., 2003). В отличие от высокополиморфных классических генов HLA класса I полиморфизм HLA-G очень ограничен. Перечислены только 50 аллелей для HLA-G, кодирующего 16 полноразмерных белков. HLA-G1 и его растворимый аналог HLA-G5 имеют идентичную внеклеточную структуру, которая представляет собой классический HLA класса I: тяжелая цепь из трех глобулярных доменов, нековалентно связанных с бета-2-

30

микроглобулином ( $\beta 2m$ ) и подходящих для связывания ограниченных пептидов, таких как пептид гистона H2A<sup>1-3</sup>. Мономер HLA-G1 отличается от молекул классического HLA класса I на уровне его пептидсвязывающей борозды (ключевого структурного элемента активирующих функций молекул HLA) и его домена  $\alpha 3$  (ключевого структурного элемента ингибирующих функций молекул HLA класса I).

Протеолитический шеддинг изоформы (изоформ) мембраны дополнительно создает растворимые молекулы (Dong et al., 2003; Pivik et al., 2004). Сообщалось о мономерах, гомо- и возможных гетеромультимерах, а также убиквитинированных белках для HLA-G. Считается, что ингибирующая функция HLA-G главным образом обусловлена димерами, а не мономерами, для блокировки Ig-подобного транскрипта 2 и 4 (ILT2 и ILT4) человеческих ингибирующих рецепторов, как наиболее охарактеризованных рецепторов. Гомодимеры HLA-G1 принимают наклонную ориентацию, которая обнажает сайты связывания ILT2 и ILT4 домена  $\alpha 3$  и, таким образом, связываются с более высокой аффинностью и более медленными скоростями диссоциации по сравнению с мономерами HLA-G.

Известные рецепторы для HLA-G включают ингибирующие рецепторы ILT2 (экспрессируемые на моноцитах, DC, В-клетках и подмножествах естественных киллеров и Т-клеток) и ILT4 (исключительно экспрессируемые клетками миеломоноцитарной линии) — основные рецепторы HLA-G на периферических иммунных клетках (Colonna et al., 1997, 1998), неингибирующие рецепторы CD8 и CD160, а также рецептор KIR2DL4, чей статус остается неоднозначным по отношению к HLA-G. ILT2 и ILT4 распознают и связываются с доменом  $\alpha 3$  и  $\beta 2m$  MHCI.

Большинство функций, описанных для HLA-G, представляют собой иммунные функции, хотя также сообщалось о неиммунных функциях, таких как ингибирование ангиогенеза и остеогенеза. Было неоднократно показано взаимодействие HLA-G-ILT2 для ингибирования функций NK-клеток, таким образом защищая клетки, экспрессирующие HLA-G от NK-опосредованного цитолиза. Кроме того, функция экспрессирующих ILT-2 Т-клеток (активированных и/или клональных Т-клеток) и В-клеток непосредственно ингибируется HLA-G. HLA-G также индуцирует альтернативную дифференциацию в миелоидных APC, индуцирует дифференциацию регуляторных миелоидных клеток и регуляторных Т-клеток, а также ингибирует фагоцитарную функцию нейтрофилов.

Эта иммуносупрессивная способность HLA-G ингибировать сигнальные пути, необходимые для NK-опосредованного цитолиза, пролиферации Т-клеток и индукции

регуляторных/супрессорных клеток и, таким образом, для уклонения от иммунной системы, может использоваться опухолевыми клетками, чтобы избежать иммунного надзора, что приводит к неконтролируемому росту клеток с более высокими инвазивными и метастатическими способностями. HLA-G не только способен уклоняться от иммунного надзора хозяина, но также усиливает метастазы во время прогрессирования злокачественных новообразований. Многочисленные исследования продемонстрировали опухолевую экспрессию HLA-G (не в нормальных окружающих зонах), которая может коррелировать со стадией заболевания или ухудшением результата лечения пациента. Экспрессия HLA-G причастна к развитию и прогрессированию опухоли, а также к опухоли на поздней стадии, более высоким инвазивным и метастатическим свойствам и плохому клиническому прогнозу. Его aberrантная экспрессия была связана с уменьшением продолжительности выживаемости.

В то время как различные виды рака демонстрируют экспрессию HLA-G, экспрессия в нормальных тканях главным образом ограничена трансплацентарным барьером на вневорсинчатом цитотрофобласте, плацентой, амниотической оболочкой и конкретными здоровыми тканями взрослого человека, такими как тимус, роговица, бронхиальные эпителиальные клетки, поджелудочная железа и специфические типы клеток, такие как мезенхимальные стволовые клетки, активированные моноциты, эритроидные и эндотелиальные предшественники (см. Carosella et al., 2015).

Принимая во внимание его мощную и широкую иммуносупрессивную функциональную роль и ограниченный характер экспрессии в нормальных тканях, HLA-G может быть определен в качестве привлекательной терапевтической мишени в солидных опухолях и В-клеточных злокачественных опухолях, сверхэкспрессирующих HLA-G.

Из нескольких полученных специфических антител к HLA-G только следующие доступные антитела связывают нативный HLA-G, экспрессированный клетками (87G, MEM-G9, MEM-G11, G223). Процент ингибирования взаимодействия HLA-G с лигандами ИЛТ-2 и/или ИЛТ-4 с помощью этих антител не является полным даже при высокой дозе соответствующего антитела. Кроме того, хотя было описано, что, в частности, антитело 87G способно усиливать уничтожение опухоли *in vitro*, нет никакой информации об эффективности блокирования HLA-G путем введения антитела *in vivo*.

Существует потребность в доменах, связывающих HLA-G, следующего поколения для терапевтических и диагностических целей.

### **Изложение сущности изобретения**

5 В настоящем изобретении предложены специфические моноклональные антитела к HLA-G, которые сильно блокируют связывание между HLA-G и его когнатными рецепторами ILT-2 и/или ILT-4. Полученные антитела к HLA-G связывают рекомбинантные или эндогенные белки HLA-G в отсутствие перекрестной реактивности с классическими молекулами МНС класса I. Антитела по данному изобретению представляют собой первые HLA-G-специфичные антитела, которые, 10 насколько нам известно, демонстрируют специфичность к HLA-G и отсутствие перекрестной реактивности с HLA-A, HLA-B, HLA-C и HLA-E; и/или полное блокирование взаимодействия HLA-G с лигандами ILT-2/4. Кроме того, антитела по данному изобретению продемонстрировали ингибирование роста опухоли после 15 введения *in vivo*.

Изобретение также относится к использованию таких антител или белков, содержащих переменные домены, полученные из этих антител, для уничтожения опухолевых клеток с повышенной экспрессией HLA-G на поверхности путем 20 привлечения иммунной системы, либо путем блокирования взаимодействия HLA-G с иммуносупрессивными лигандами, либо путем опосредованного Fc или биспецифическим белком привлечения иммунных клеток. Соответственно, антитела подходят для лечения или облегчения состояния, диагностированного у пациентов, когда указанное состояние использует преимущества индуцированной экспрессии HLA-G у пациента.

25 В настоящем описании предложен выделенный белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывает человеческий лейкоцитарный антиген G (HLA-G), причем антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит:

а) определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HCDR) 1, 30 HCDR2 и HCDR3 переменной области тяжелой цепи (VH) с последовательностью SEQ ID NO: 50 и определяющую комплементарность область легкой цепи (LCDR) 1, LCDR2 и LCDR3 переменной области легкой цепи (VL) с последовательностью SEQ ID NO: 51; или

b) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 52 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 53; или

c) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 54 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 55; или

5 d) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 56 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 57; или

e) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 58 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 59; или

10 f) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 60 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 61; или

g) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 62 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 63; или

h) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 64 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 65; или

15 i) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 66 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 67; или

j) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 68 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 69.

20 В определенных вариантах осуществления выделенный белок содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

a) SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно;

b) SEQ ID NO: 73, 71, 74, 91, 89 и 92 соответственно;

c) SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно;

d) SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно;

25 e) SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно;

f) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно;

g) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно;

h) SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно; или

i) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.

30 В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой scFv, a (scFv)<sub>2</sub>, a Fv, a Fab, a F(ab')<sub>2</sub>, a Fd, a dAb или a VHH.

В других вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой Fab:

В других вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой VHH.

В других вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой scFv.

5 В других вариантах осуществления scFv содержит, от N-конца к C-концу, VH, первый линкер (L1) и VL (VH-L1-VL) или VL, L1 и VH (VL-L1-VH).

В определенных вариантах осуществления L1 содержит:

- a) около 5–50 аминокислот;
- b) около 5–40 аминокислот;
- 10 c) около 10–30 аминокислот; или
- d) около 10–20 аминокислот.

В определенных вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.

15 В определенных вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8.

В других вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68 и VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.

20 В других вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит:

- a) VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;
- b) VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;
- c) VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;
- 25 d) VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;
- e) VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;
- f) VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;
- g) VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;
- h) VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;
- 30 i) VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67; или
- j) VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

В других вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:

248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268 или 269.

5 В других вариантах осуществления белок в соответствии с настоящим описанием конъюгирован с фрагментом, увеличивающим время полужизни.

В других вариантах осуществления фрагмент, продлевающий период полужизни, представляет собой иммуноглобулин (Ig), фрагмент Ig, константную область Ig, фрагмент константной области Ig, область Fc, трансферрин, альбумин, альбумин-связывающий домен или полиэтиленгликоль.

10 В других вариантах осуществления выделенный белок представляет собой моноспецифический белок.

В других вариантах осуществления выделенный белок представляет собой мультиспецифический белок.

15 В других вариантах осуществления мультиспецифический белок представляет собой биспецифический белок.

В других вариантах осуществления мультиспецифический белок представляет собой триспецифический белок.

20 В других вариантах осуществления выделенный белок дополнительно содержит константную область иммуноглобулина (Ig) или фрагмент его константной области Ig.

В других вариантах осуществления фрагмент константной области Ig содержит область Fc.

В других вариантах осуществления фрагмент константной области Ig содержит домен CH2.

25 В других вариантах осуществления фрагмент константной области Ig содержит домен CH3.

В других вариантах осуществления фрагмент константной области Ig содержит домен CH2 и домен CH3.

В других вариантах осуществления фрагмент константной области Ig содержит по меньшей мере часть шарнирной области, домена CH2 и домена CH3.

30 В других вариантах осуществления фрагмент константной области Ig содержит шарнирную область, домен CH2 и домен CH3.

В других вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с N-концом константной области Ig или фрагмента константной области Ig.

В других вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с С-концом константной области Ig или фрагмента константной области Ig.

5 В других вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig посредством второго линкера (L2).

В других вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.

10 В других вариантах осуществления мультиспецифический белок содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном на лимфоците.

В других вариантах осуществления лимфоцит представляет собой Т-клетку.

В других вариантах осуществления Т-клетка представляет собой CD8<sup>+</sup> Т-клетку.

15 В других вариантах осуществления лимфоцит представляет собой клетку натурального киллера (NK).

В других вариантах осуществления мультиспецифический белок содержит антигенсвязывающий домен, который связывает CD3, CD3 эпсилон (CD3ε), CD8, KI2L4, NKG2E, NKG2D, NKG2F, BTNL3, CD186, BTNL8, PD-1, CD195 или NKG2C.

20 В других вариантах осуществления мультиспецифический белок содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном, отличным от CD3ε.

В других вариантах осуществления связывающий домен, который связывает CD3ε, содержит:

25 а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1) с SEQ ID NO: 361, HCDR2 с SEQ ID NO: 362, HCDR3 с SEQ ID NO: 363, определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (LCDR1) с SEQ ID NO: 367, LCDR2 с SEQ ID NO: 368 и LCDR3 с SEQ ID NO: 369;

b) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 340;

30 c) HCDR1 с SEQ ID NO: 361, HCDR2 с SEQ ID NO: 362, HCDR3 с SEQ ID NO: 363, LCDR1 с SEQ ID NO: 367, LCDR2 с SEQ ID NO: 368 и LCDR3 с SEQ ID NO: 370;

d) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 341;

e) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 342;

f) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 343;

g) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 344;

h) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 345;

i) HCDR1 с SEQ ID NO: 364, HCDR2 с SEQ ID NO: 365, HCDR3 с SEQ ID NO: 366, LCDR1 с SEQ ID NO: 371, LCDR2 с SEQ ID NO: 372 и LCDR3 с SEQ ID NO: 373;

5 j) VH с SEQ ID NO: 346 и VL с SEQ ID NO: 347; или

k) VH с SEQ ID NO: 348 и VL с SEQ ID NO: 349.

В других вариантах осуществления константная область Ig или фрагмент константной области Ig представляет собой IgG1, IgG2, IgG3 или изотип IgG4.

10 В других вариантах осуществления константная область Ig или фрагмент константной области Ig содержит по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к ослаблению связывания белка с рецептором Fcγ (FcγR).

В других вариантах осуществления по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к ослаблению связывания белка с FcγR, выбирают из группы, состоящей из L235A/D265S, F234A/L235A, L234A/L235A, L234A/L235A/D265S, V234A/G237A/  
15 P238S/H268A/V309L/A330S/P331S, F234A/L235A, S228P/F234A/L235A, N297A, V234A/G237A, K214T/E233P/ L234V/L235A/G236-  
делеция/A327G/P331A/D365E/L358M, H268Q/V309L/A330S/P331S, S267E/L328F, L234F/L235E/D265A, L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S, S228P/F234A/L235A/G237A/P238S и S228P/F234A/L235A/G236-делеция/G237A/P238S,  
20 причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

В других вариантах осуществления константная область Ig или фрагмент константной области Ig содержат по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к усилению связывания белка с FcγR.

В других вариантах осуществления по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к усилению связывания белка с FcγR, выбирают из группы, состоящей из S239D/I332E, S298A/E333A/K334A, F243L/R292P/Y300L, F243L/R292P/Y300L/P396L, F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L и G236A/S239D/I332E, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

30 В других вариантах осуществления FcγR представляет собой FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB или FcγRIII или любую их комбинацию.

В других вариантах осуществления константная область Ig или фрагмент константной области Ig содержат по меньшей мере одну мутацию, которая модулирует период полужизни белка.

В других вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация, которая модулирует период полувыведения белка, выбрана из группы, состоящей из H435A, P257I/N434H, D376V/N434H, M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F, T308P/N434A и H435R, причем нумерация остатков соответствует каталогу ЕС.

5 В других вариантах осуществления белок включает по меньшей мере одну мутацию в домене CH3 константной области Ig.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну мутацию в домене CH3 константной области Ig выбирают из группы, состоящей из T350V, L351Y, F405A, Y407V, T366Y, T366W, F405W, T394W, T394S, Y407T, Y407A, T366S/L368A/Y407V,  
10 L351Y/F405A/Y407V, T366I/K392M/T394W, F405A/Y407V, T366L/K392M/T394W, L351Y/Y407A, T366A/K409F, L351Y/Y407A, T366V/K409F, T366A/K409F, T350V/L351Y/F405A/Y407V и T350V/T366L/K392L/T394W, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

15 В определенных вариантах осуществления в настоящем описании также предложен выделенный мультиспецифический белок, содержащий первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном.

В других вариантах осуществления лимфоцитарный антиген представляет собой  
20 T-клеточный антиген.

В других вариантах осуществления T-клеточный антиген представляет собой CD8+ T-клеточный антиген.

В других вариантах осуществления лимфоцитарный антиген представляет собой NK-клеточный антиген.

25 В других вариантах осуществления лимфоцитарный антиген представляет собой CD3, CD3 эпсилон (CD3ε), CD8, KI2L4, NKG2E, NKG2D, NKG2F, BTNL3, CD186, BTNL8, PD-1, CD195 или NKG2C.

В других вариантах осуществления лимфоцитарный антиген представляет собой CD3ε.

30 В других вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержит scFv, (scFv)<sub>2</sub>, Fv, Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fd, dAb или VHH.

В других вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержит Fab.

5 В других вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержит VHH.

В других вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержит scFv.

10 В других вариантах осуществления scFv содержит, от N-конца к C-концу, VH, первый линкер (L1) и VL (VH-L1-VL) или VL, L1 и VH (VL-L1-VH).

В других вариантах осуществления L1 содержит:

- a) около 5–50 аминокислот;
- b) около 5–40 аминокислот;
- 15 c) около 10–30 аминокислот; или
- d) около 10–20 аминокислот.

В других вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.

20 В других вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8.

В других вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 70, 73, 75, 78, 81 или 85, HCDR2 с SEQ ID NO: 71, 76, 79, 82 или 86, HCDR3 с SEQ ID NO: 72, 74, 77, 80, 83, 25 84 или 87, LCDR1 с SEQ ID NO: 88, 91, 93, 95, 97, 99, 101 или 102, LCDR2 SEQ ID NO: 89 или 103, LCDR3 с SEQ ID NO: 90, 92, 94, 96, 98, 100 или 104.

В других вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

- 30 a) SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно;
- b) SEQ ID NO: 73, 71, 74, 91, 89 и 92 соответственно;
- c) SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно;
- d) SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно;
- e) SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно;

- f) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно;
- g) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно;
- h) SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно; или
- i) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.

5 В других вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит:

- a) VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;
- b) VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;
- c) VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;
- 10 d) VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;
- e) VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;
- f) VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;
- g) VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;
- h) VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;
- 15 i) VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67; или
- j) VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

В других вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68 и VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.

20 В других вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268 или 269.

25 В других вариантах осуществления второй антигенсвязывающий домен, который связывает лейкоцитарный антиген, содержит:

- a) HCDR1 с SEQ ID NO: 361, HCDR2 с SEQ ID NO: 362, HCDR3 с SEQ ID NO: 363, LCDR1 с SEQ ID NO: 367, LCDR2 с SEQ ID NO: 368 и LCDR3 с SEQ ID NO: 369;
- b) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 340;
- 30 c) HCDR1 с SEQ ID NO: 361, HCDR2 с SEQ ID NO: 362, HCDR3 с SEQ ID NO: 363, LCDR1 с SEQ ID NO: 367, LCDR2 с SEQ ID NO: 368 и LCDR3 с SEQ ID NO: 370;
- d) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 341;
- e) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 342;

- f) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 343;
- g) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 344;
- h) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 345;
- i) HCDR1 с SEQ ID NO: 364, HCDR2 с SEQ ID NO: 365, HCDR3 с SEQ ID NO: 366, LCDR1 с SEQ ID NO: 371, LCDR2 с SEQ ID NO: 372 и LCDR3 с SEQ ID NO: 373;
- j) VH с SEQ ID NO: 346 и VL с SEQ ID NO: 347; или
- k) VH с SEQ ID NO: 348 и VL с SEQ ID NO: 349.

В других вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с первой константной областью иммуноглобулина (Ig) или фрагментом первой константной области Ig и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, конъюгирован со второй константной областью иммуноглобулина (Ig) или фрагментом второй константной области Ig.

В других вариантах осуществления выделенный мультиспецифический белок дополнительно содержит второй линкер (L2) между первым антигенсвязывающим доменом, который связывается с HLA-G, и первой константной областью Ig или фрагментом первой константной области Ig и между вторым антигенсвязывающим доменом, который связывается с лимфоцитарным антигеном, и второй константной областью Ig или фрагментом второй константной области Ig.

В других вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.

В других вариантах осуществления первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig представляют собой изотип IgG1, IgG2 и IgG3 или IgG4.

В других вариантах осуществления первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig содержат по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к ослаблению связывания мультиспецифического белка с FcγR.

В других вариантах осуществления по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к ослаблению связывания мультиспецифического белка с FcγR, выбирают из группы, состоящей из L235A/D265S, F234A/L235A, L234A/L235A, L234A/L235A/D265S, V234A/G237A/ P238S/H268A/V309L/A330S/P331S, F234A/L235A,

S228P/F234A/ L235A, N297A, V234A/G237A, K214T/E233P/ L234V/L235A/G236-  
 делеция/A327G/P331A/D365E/L358M, H268Q/V309L/A330S/P331S, S267E/L328F,  
 L234F/L235E/D265A, L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S,  
 S228P/F234A/L235A/G237A/P238S и S228P/F234A/L235A/G236-делеция/G237A/P238S,  
 5 причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

В других вариантах осуществления первая константная область Ig или фрагмент  
 первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй  
 константной области Ig содержат по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к  
 усилению связывания мультиспецифического белка с Fc $\gamma$ -рецептором (Fc $\gamma$ R).

10 В других вариантах осуществления по меньшей мере одну мутацию, которая  
 приводит к усилению связывания мультиспецифического белка с Fc $\gamma$ R, выбирают из  
 группы, состоящей из S239D/I332E, S298A/E333A/K334A, F243L/R292P/Y300L,  
 F243L/R292P/Y300L/P396L, F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L и G236A/S239D/I332E,  
 причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

15 В других вариантах осуществления Fc $\gamma$ R представляет собой Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RIIA,  
 Fc $\gamma$ RIIB или Fc $\gamma$ RIII или любую их комбинацию.

В других вариантах осуществления первая константная область Ig или фрагмент  
 первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй  
 константной области Ig содержат по меньшей мере одну мутацию, которая модулирует  
 20 период полужизни мультиспецифического белка.

В других вариантах осуществления по меньшей мере одну мутацию, которая  
 модулирует период полужизни мультиспецифического белка, выбирают из группы,  
 состоящей из H435A, P257I/N434H, D376V/N434H, M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F,  
 T308P/N434A и H435R, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

25 В других вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в домене  
 CH3 первой константной области Ig или в домене CH3 фрагмента первой константной  
 области Ig и/или по меньшей мере одна мутация в домене CH3 второй константной  
 области Ig или в домене CH3 фрагмента второй константной области Ig.

В других вариантах осуществления по меньшей мере одну мутацию в домене  
 30 CH3 первой константной области Ig или в домене CH3 фрагмента первой константной  
 области Ig и/или по меньшей мере одну мутацию в домене CH3 второй константной  
 области Ig или в домене CH3 фрагмента второй константной области Ig выбирают из  
 группы, состоящей из T350V, L351Y, F405A, Y407V, T366Y, T366W, F405W, T394W,  
 T394S, Y407T, Y407A, T366S/L368A/Y407V, L351Y/F405A/Y407V,

T366I/K392M/T394W, F405A/Y407V, T366L/K392M/T394W, L351Y/Y407A, T366A/K409F, L351Y/Y407A, T366V/K409F, T366A/K409F, T350V/L351Y/F405A/Y407V и T350V/T366L/K392L/T394W, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

5 В других вариантах осуществления первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig содержат следующие мутации:

а) L235A\_L235A\_D265S\_T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V в первой константной области Ig и L235A\_L235A\_D265S\_T350V\_T366L\_K392L\_T394W во второй константной области Ig; или

10 б) L235A\_L235A\_D265S\_T350V\_T366L\_K392L\_T394W в первой константной области Ig и L235A\_L235A\_D265S\_T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V во второй константной области Ig.

15 В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен иммуноконъюгат, содержащий выделенный белок по настоящему описанию, конъюгированный с терапевтическим агентом или средством визуализации.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая выделенный белок по настоящему описанию и фармацевтически приемлемый носитель.

20 В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен полинуклеотид, кодирующий выделенный белок по настоящему описанию.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий выделенный белок по настоящему описанию.

25 В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложена клетка-хозяин, содержащая вектор, кодирующий выделенный белок по настоящему описанию.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен способ получения выделенного белка по настоящему описанию, включающий культивирование клетки-хозяина по настоящему описанию в условиях, при которых происходит экспрессия белка, и выделение белка, продуцируемого клеткой-хозяином.

30 В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен иммуноконъюгат, содержащий выделенный мультиспецифический белок по

настоящему описанию, конъюгированный с терапевтическим агентом или средством визуализации.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложена фармацевтическая композиция, содержащая выделенный мультиспецифический белок по настоящему описанию и фармацевтически приемлемый носитель.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен полинуклеотид, кодирующий выделенный мультиспецифический белок по настоящему описанию.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий выделенный мультиспецифический белок по настоящему описанию.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложена клетка-хозяин, содержащая вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий выделенный мультиспецифический белок по настоящему описанию.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен способ получения выделенного мультиспецифического белка по настоящему описанию, включающий культивирование клетки-хозяина в условиях, при которых происходит экспрессия белка, и выделение белка, продуцируемого клеткой-хозяином.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен способ лечения рака, экспрессирующего HLA-G, у субъекта, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного белка по настоящему описанию, выделенного мультиспецифического белка по настоящему описанию, иммуноконъюгата по настоящему описанию или фармацевтической композиции по настоящему описанию субъекту в течение времени, достаточного для лечения рака, экспрессирующего HLA-G.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен способ уменьшения количества опухолевых клеток, экспрессирующих HLA-G, у субъекта, включающий введение выделенного белка по настоящему описанию, выделенного мультиспецифического белка по настоящему описанию, иммуноконъюгата по настоящему описанию или фармацевтической композиции по настоящему описанию субъекту в течение времени, достаточного для уменьшения количества опухолевых клеток, экспрессирующих HLA-G.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен способ предотвращения возникновения рака, экспрессирующего HLA-G, у субъекта, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного белка по настоящему описанию, выделенного мультиспецифического белка по настоящему описанию, иммуноконъюгата по настоящему описанию или фармацевтической композиции по настоящему описанию субъекту для предотвращения возникновения рака, экспрессирующего HLA-G, у субъекта.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен способ лечения состояния, отличного от рака, у субъекта, подверженного риску развития рака, экспрессирующего HLA-G, включающий введение выделенного белка по настоящему описанию, выделенного мультиспецифического белка по настоящему описанию, иммуноконъюгата по настоящему описанию или фармацевтической композиции по настоящему описанию субъекту для лечения состояния, отличного от рака.

В других вариантах осуществления рак, экспрессирующий HLA-G, представляет собой рак легкого, рак поджелудочной железы, рак почки, рак головы и шеи, рак яичника, рак пищевода или рак молочной железы.

В других вариантах осуществления выделенный белок или выделенный мультиспецифический белок вводят в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

В других вариантах осуществления второй терапевтический агент представляет собой хирургическое вмешательство, химиотерапию, терапию по депривации андрогенов или лучевую терапию или любую их комбинацию.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен способ обнаружения наличия у субъекта, включающий введение иммуноконъюгата по настоящему описанию субъекту, предположительно имеющему рак, и визуализацию биологических структур, с которыми связывается иммуноконъюгат, таким образом обнаруживая наличие рака.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен набор, содержащий выделенный белок по настоящему описанию, выделенный мультиспецифический белок по настоящему описанию, иммуноконъюгат по настоящему описанию или фармацевтическую композицию по настоящему описанию.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложено антиидиотипическое антитело, связывающееся с выделенным белком по настоящему описанию.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен выделенный белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с эпитопом на HLA-G, причем эпитоп представляет собой прерывистый эпитоп, содержащий аминокислотные последовательности HHPVFDYE (SEQ ID NO: 485) и VPS.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен выделенный белок, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 478 или 479.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен выделенный белок, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 478.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен выделенный белок, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 479.

В определенных вариантах осуществления выделенный белок содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 490.

В определенных вариантах осуществления выделенный белок содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 489 и 447. В определенных вариантах осуществления выделенный белок содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 439.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен выделенный белок, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 465 и 468.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен выделенный белок, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 466 и 469.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложен выделенный белок, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 467 и 470.

## **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ**

Вышеизложенное станет очевидным из представленного ниже более подробного описания примера вариантов осуществления изобретения, которые проиллюстрированы на прилагаемых графических материалах.

На **Фиг. 1** показана способность  $\nu$ -областей связывать рекомбинантный HLA-G после термообработки при форматировании в виде scFv.

На **Фиг. 2** показано сопоставление эпитопов выбранных антител на HLA-G (SEQ ID NO: 1) с применением ЖХ-МС на основе водородно-дейтериевого обмена. Показанная последовательность представляет собой фрагмент с SEQ ID NO: 1 с нумерацией аминокислотных остатков, начиная с первого остатка зрелого HLA-G (показаны остатки 183–274, SEQ ID NO: 497).

На **Фиг. 3А–3Б** показано усиление опосредованной NK-клетками цитотоксичности клеток K562-HLA-G за счет варибельной области, полученной из MHGB665, сконструированной либо на IgG1 (MHGB665), либо на IgG4 (MHGB523). На **Фиг. 3А** показана цитотоксичность, опосредованная клетками NKL; на **Фиг. 3Б** показана цитотоксичность, опосредованная клетками NK-92.

На **Фиг. 4А–4Б** показано усиление опосредованной NK-клетками цитотоксичности клеток K562-HLA-G за счет варибельной области, полученной из MHGB669, сконструированной либо на IgG1 (MHGB669), либо на IgG4 (MHGB526). На **Фиг. 4А** показана цитотоксичность, опосредованная клетками NKL; на **Фиг. 4Б** показана цитотоксичность, опосредованная клетками NK-92.

На **Фиг. 5А–5Б** показано усиление опосредованной NK-клетками цитотоксичности клеток K562-HLA-G за счет варибельной области, полученной из MHGB688, сконструированной либо на IgG1 (MHGB688), либо на IgG4 (MHGB596). На **Фиг. 5А** показана цитотоксичность, опосредованная клетками NKL; на **Фиг. 5Б** показана цитотоксичность, опосредованная клетками NK-92.

На **Фиг. 6А–6Б** показано усиление опосредованной NK-клетками цитотоксичности клеток K562-HLA-G за счет варибельной области, полученной из MHGB694, сконструированной либо на IgG1 (MHGB694), либо на IgG4 (MHGB616). На **Фиг. 6А** показана цитотоксичность, опосредованная клетками NKL; на **Фиг. 6Б** показана цитотоксичность, опосредованная клетками NK-92.

На **Фиг. 7А–7Б** показано усиление опосредованной NK-клетками цитотоксичности клеток K562-HLA-G за счет варибельной области, полученной из MHGB687, сконструированной либо на IgG1 (MHGB687), либо на IgG4 (MHGB585).

На **Фиг. 7А** показана цитотоксичность, опосредованная клетками NKL; на **Фиг. 7Б** показана цитотоксичность, опосредованная клетками NK-92.

На **Фиг. 8А–8Б** показано усиление опосредованной NK-клетками цитотоксичности клеток K562-HLA-G за счет вариабельной области, полученной из МНGB672, сконструированной либо на IgG1 (МНGB672), либо на IgG4 (МНGB508).  
5 На **Фиг. 8А** показана цитотоксичность, опосредованная клетками NKL; на **Фиг. 8Б** показана цитотоксичность, опосредованная клетками NK-92.

На **Фиг. 9** показана активность ADCC в отношении клеток JEG-3, опосредованная выбранными антителами МНGB665 (B665), МНGB669 (B669),  
10 МНGB672 (B672), МНGB682 (B682), МНGB687 (B687) и МНGB688 (B688).

На **Фиг. 10А–10Б** показана активность ADCC выбранных антител.

На **Фиг. 10В–10Г** показана активность CDC выбранных антител.

На **Фиг. 11А–11Б** показано связывание супернатантов гибридомы с первичными Т-клетками человека. Клон UCHT1 использовали в качестве положительного контроля  
15 (**Фиг. 11Б**); изотип мышиного IgG1 (mIgG1) использовали в качестве отрицательного контроля.

На **Фиг. 12** показано связывание вариантов scFv антител к CD3, экспрессируемых в *E. coli*, с CD3.

На **Фиг. 13** показано выравнивание областей VL CD3B815 (SEQ ID NO: 340),  
20 CD3W244 (SEQ ID NO: 341), CD3W245 (SEQ ID NO: 342), CD3W246 (SEQ ID NO: 343), CD3W247 (SEQ ID NO: 344) и CD3W248 (SEQ ID NO: 345).

На **Фиг. 14** показаны скорости водородно-дейтериевого обмена, определенные с помощью масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена (HDX-MS), измеренные для комплекса CD3W245, связанного с CD3ε человека (CD3ε:CD3W245), или  
25 комплекса ОКТ3, связанного с CD3ε человека (CD3ε:ОКТ3) (SEQ ID No: 484, который представляет собой показанный фрагмент SEQ ID NO: 375). Одинарным подчеркиванием обозначены сегменты со снижением уровней дейтерирования на 10–30%, а двойным подчеркиванием — сегменты со снижением уровней дейтерирования на > 30% в присутствии антитела по сравнению с присутствием только CD3ε.

30 На **Фиг. 15А–15Б** показана цитотоксичность HC3B125 в отношении экспрессирующих HLA-G опухолевых клеток HUP-T3 и % активации Т-клеток.

На **Фиг. 15В–15Г** показана цитотоксичность HC3B125 в отношении экспрессирующих HLA-G опухолевых клеток RERF-LC-Ad-1 и % активации Т-клеток.

На **Фиг. 16** показана цитотоксичность HC3B258 и HC3B125 в отношении клеток RERF-LC-Ad-1; соотношения эффектор (Т-клетка) : мишень (RERF-LC-Ad1) составляли 1:3, 1:1 или 3:1, как указано.

На **Фиг. 17А–17Б** показаны групповые средние объемы опухолей (17А) и индивидуальные объемы опухолей на сутки 27 установленного панкреатического полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX) у гуманизированных клетками CD34<sup>+</sup> мышей NSG-SGM3, получавших либо контроль (HLA-G x Null), либо HCB125.

На **Фиг. 18** показаны групповые средние объемы опухолей привитых ксенотрансплантатов Нур-Т3 у гуманизированных Т-клетками мышей NSG, получавших либо контроль (CD3 x Null), либо HCB125.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

Описанные способы будут более понятны со ссылкой на приведенное ниже подробное описание в сочетании с прилагаемыми фигурами, которые являются частью настоящего описания. Следует понимать, что описанные способы не ограничены конкретными способами, описанными и/или приведенными в настоящем документе, и что используемая в настоящем документе терминология предназначена для описания конкретных вариантов осуществления исключительно в качестве примера и не призвана носить ограничивающий характер в отношении заявленных способов.

Все патенты, опубликованные заявки на патенты и публикации, процитированные в настоящем документе, включены в него путем ссылки, как если бы они были полностью изложены в настоящем документе.

В случае представления списка, если не указано иное, следует понимать, что каждый отдельный элемент этого списка и каждая комбинация из этого списка является отдельным вариантом осуществления. Например, список вариантов осуществления, представленный в виде «**А, В или С**», следует интерпретировать как список, включающий варианты осуществления «А», «В», «С», «А или В», «А или С», «В или С» или «А, В или С».

При использовании в этом описании и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают и множественное число, если содержание текста четко не указывает на иное. Так, например, ссылка на «клетку» включает комбинацию двух или более клеток и т. п.

Переходные термины «**содержащий**», «**состоящий по существу из**» и «**состоящий из**» предназначены для обозначения их по существу общепринятых

патентных значений; т. е. (i) термин «содержащий», который является синонимом терминам «включающий», «содержащий» или «характеризующийся», является включающим или неограниченным и не исключает дополнительные, неуказанные элементы или стадии способа; (ii) термин «состоящий из» исключает любые элемент, стадию или ингредиент, не указанные в пункте формулы изобретения; и (iii) термин «состоящий преимущественно из» ограничивает объем пункта формулы изобретения конкретными материалами или этапами «и теми, которые не оказывают существенного влияния на основную(ые) и новую(ые) характеристику(и)» заявленного изобретения. Варианты осуществления, описанные в отношении фразы «содержащий» (или его эквивалентов), обеспечивают такое же значение, как варианты осуществления, описанные независимо друг от друга в отношении фразы «состоящий из» и «состоящий по существу из».

Термин «около» означает «в пределах приемлемого диапазона ошибки» для конкретного значения, определенного обычным специалистом в данной области, причем ошибка отчасти зависит от того, каким образом измерено или определено это значение, т. е. от ограничений системы измерения. Если в примерах или в других разделах настоящего описания в контексте конкретного анализа, результата или варианта осуществления явным образом не указано иное, термин «около» означает «в пределах одного среднеквадратичного отклонения» в соответствии с практикой, принятой в данной области, или «в диапазоне до 5%», в зависимости от того, что больше.

Термин «активация» или «стимуляция» или «активированный(-ая, -ые)» или «стимулированный(-ая, -ые)» относится к индукции изменения биологического состояния клетки, что приводит к экспрессии маркеров активации, продукции цитокинов, пролиферации или опосредованной цитотоксичности клеток-мишеней; Клетки могут активироваться первичными стимулирующими сигналами. Костимулирующие сигналы могут усиливать величину первичных сигналов и подавлять гибель клеток после начальной стимуляции, что приводит к более продолжительному состоянию активации и, таким образом, более высокой цитотоксической способности. Термин «костимулирующий сигнал» относится к сигналу, который в комбинации с первичным сигналом, таким как лигирование TCR/CD3, приводит к пролиферации и/или активации Т-клеток и/или NK-клеток и/или повышению или понижению экспрессии ключевых молекул.

Термин «**альтернативный каркас**» относится к одноцепочечному белковому каркасу, который содержит структурированную сердцевину, связанную с переменными доменами с высокой конформационной толерантностью. Переменные домены допускают изменение, внесенное без ущерба для целостности каркаса, и, следовательно, переменные домены можно конструировать и выбирать для связывания со специфическим антигеном.

Термин «**антителозависимая клеточная цитотоксичность**», «**антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность**» или «**ADCC**» относится к механизму индукции гибели клеток, который зависит от взаимодействия покрытых антителами клеток-мишеней с эффекторными клетками, обладающими литической активностью, такими как клетки естественные киллеры (NK), моноциты, макрофаги и нейтрофилы, посредством гамма-рецепторов Fc (Fc $\gamma$ R), экспрессирующихся на эффекторных клетках.

Термин «**антителозависимый клеточный фагоцитоз**» или **ADCP** относится к механизму уничтожения покрытых антителами клеток-мишеней путем интернализации фагоцитарными клетками, такими как макрофаги или дендритные клетки.

Термин «**антиген**» обозначает любую молекулу (например, белок, пептид, полисахарид, гликопротеин, гликолипид, нуклеиновую кислоту, их части или их комбинации), способную связываться с антигенсвязывающим доменом или T-клеточным рецептором, который способен опосредовать иммунный ответ. Примеры иммунных ответов включают в себя выработку антител и активацию иммунных клеток, таких как T-клетки, B-клетки или NK-клетки. Антигены могут экспрессироваться генами, синтезироваться или быть полученными путем очистки из биологических образцов, таких как образец ткани, образец опухоли, клетка или жидкость с помощью других биологических компонентов, организмов, субъединиц белков/антигенов, убитых или инактивированных цельных клеток или лизатов.

«**Антигенсвязывающий фрагмент**» или «**антигенсвязывающий домен**» относится к части молекулы иммуноглобулина, которая связывает антиген. Антигенсвязывающие фрагменты могут представлять собой синтетические, ферментативно получаемые или модифицированные методами генной инженерии полипептиды, и они включают части иммуноглобулина, которые связывают антиген, такие как VH, VL, VH и VL, фрагменты Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fd и Fv, доменные антитела (dAb), состоящие из одного домена VH или одного домена VL, переменные домены IgNAR акулы, адаптированные к верблюду VH-домены, VHH-домены, минимальные

единицы распознавания, состоящие из аминокислотных остатков, имитирующих CDR-области антитела, например участки FR3-CDR3-FR4, HCDR1, HCDR2 и/или HCDR3, а также LCDR1, LCDR2 и/или LCDR3, альтернативные каркасы, которые связывают антиген, и мультиспецифические белки, содержащие антигенсвязывающие фрагменты.

5 Антигенсвязывающие фрагменты (такие как VH и VL) могут быть связаны вместе посредством синтетического линкера с образованием различных типов конфигураций одиночных антител, в которых домены VH/VL можно объединять в пару внутримолекулярно или межмолекулярно в тех случаях, когда домены VH и VL экспрессируются отдельными цепями с образованием моновалентного

10 антигенсвязывающего домена, такого как одноцепочечный Fv (scFv) или диатело. Антигенсвязывающие фрагменты также могут быть конъюгированы с другими антителами, белками, антигенсвязывающими фрагментами или альтернативными каркасом, которые могут быть моноспецифическими или мультиспецифическими для конструирования биспецифических и мультиспецифических белков.

15 Термин «**антитела**» подразумевается в широком значении и включает молекулы иммуноглобулинов, в том числе моноклональные антитела, включая мышинные, человеческие, гуманизированные и химерные моноклональные антитела, антигенсвязывающие фрагменты, мультиспецифические антитела, например биспецифические, триспецифические, тетраспецифические и т. п. антитела, димерные,

20 тетрамерные или мультимерные антитела, одноцепочечные антитела, доменные антитела и любую другую модифицированную конфигурацию молекулы иммуноглобулина, которая содержит антигенсвязывающий сайт требуемой специфичности. «Полноразмерные антитела» состоят из двух тяжелых цепей (HC) и двух легких цепей (LC), соединенных между собой дисульфидными связями, а также из

25 их мультимеров (например, IgM). Каждая тяжелая цепь состоит из варибельной области тяжелой цепи (VH) и константной области тяжелой цепи (состоящей из доменов CH1, шарнирной области, CH2 и CH3). Каждая легкая цепь состоит из варибельной области (VL) легкой цепи и константной области (CL) легкой цепи. Области VH и VL можно дополнительно подразделять на области

30 гиперварибельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), между которыми расположены каркасные области (FR). Каждая из VH и VL состоит из трех CDR и четырех сегментов FR, расположенных в направлении от аминок- к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелой

цепи иммуноглобулины могут относиться к пяти основным классам — IgA, IgD, IgE, IgG и IgM. IgA и IgG дополнительно подразделяются на изоотипы IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Легкие цепи антител любых видов позвоночных в зависимости от аминокислотных последовательностей их константных доменов можно отнести к  
5 одному из двух четко отличающихся типов, а именно, каппа ( $\kappa$ ) и лямбда ( $\lambda$ ).

Термин «**биспецифический**» относится к молекуле (такой как антитело), которая специфически связывается с двумя разными антигенами или двумя разными эпитопами в пределах одного антигена. Биспецифическая молекула может иметь перекрестную реактивность с другими родственными антигенами, например, таким же  
10 антигеном от других видов (гомологов), таких как человек или обезьяна, например, *Macaca cynomolgus* (яванский макак, крабоед) или *Pan troglodytes*, или может связывать эпитоп, который имеется в двух или более разных антигенах.

Термин «**рак**» обозначает широкую группу различных заболеваний, характеризующихся неконтролируемым ростом ненормальных клеток в организме.  
15 Нерегулируемое деление и рост клеток приводят к образованию злокачественных опухолей, которые прорастают в соседние ткани и могут также метастазировать в отдаленные части тела через лимфатическую систему или кровоток. «Рак» или «раковая ткань» может включать опухоль.

Термин «**комплемент-зависимая цитотоксичность**» или «**CDC**», относится к механизму индукции гибели клеток, в рамках которого эффекторный домен Fc связанного с мишенью антитела связывает и активирует компонент комплемента C1q, который, в свою очередь, активирует каскад комплемента, приводящий к гибели  
20 клетки-мишени. Активация комплемента может также приводить к осаждению компонентов комплемента на поверхности клеток-мишеней, что облегчает CDC посредством связывания на лейкоцитах рецепторов комплемента (например, CR3).  
25

Термин «**определяющие комплементарность области**» (CDR) относится к областям антител, которые связывают антиген. Существуют три CDR в области VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) и три CDR в области VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3). CDR можно определить с помощью различных систем разграничения, например, таких как  
30 Kabat (Wu et al. (1970) J Exp Med 132: 211–50; Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991), Chothia (Chothia et al. (1987) J Mol Biol 196: 901–17), IMGT (Lefranc et al. (2003) Dev Comp Immunol 27: 55–77) и AbM (Martin and Thornton J Biol Biol 263: 800–15, 1996). Описано соответствие между различными системами

разграничения и нумерациями вариабельных областей (см., например, Lefranc et al. (2003) Dev Comp Immunol 27: 55–77; Honegger and Pluckthun, J Mol Biol (2001) 309:657–70; база данных International ImMunoGeneTics (IMGT); веб-ресурсы, [http://www\\_imgt\\_org](http://www_imgt_org)). Для разметки CDR можно использовать доступные программы, такие как abYsis от UCL Business PLC. Используемые в данном документе термины «CDR», «HCDR1», «HCDR2», «HCDR3», «LCDR1», «LCDR2» и «LCDR3» включают в себя CDR, определенные любым из способов, описанных выше, в соответствии с Kabat, Chothia, IMGT или AbM, если в описании явным образом не указано иное.

Термин «**уменьшение**», «**более низкий**» «**уменьшать**», «**снижать**» или «**угнетать**» относится по существу к способности тестируемой молекулы опосредовать сниженный ответ (*m. e.*, эффект на последующих стадиях) по сравнению с ответом, который опосредован контролем или носителем. Иллюстративные ответы представляют собой размножение Т-клеток, активацию Т-клеток или опосредованное Т-клетками уничтожение опухолевых клеток или связывание белка с его антигеном или рецептором, усиленное связывание с Fc $\gamma$  или улучшенными эффекторными функциями Fc, такими как улучшенная ADCC, CDC и/или ADCP. Уменьшение может представлять собой статистически значимое различие в измеренном ответе между тестовой молекулой и контролем (или носителем) или снижением измеренного ответа, например, уменьшением в около 1,1, 1,2, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20 или 30 раз или более, например, в 500, 600, 700, 800, 900, 1000 раз или более (включая все целые числа и десятичные точки в интервале между и более 1, например, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8 и т. д.).

Термин «**дифференциация**» относится к способу уменьшения потенциала или пролиферации клетки или переходу клетки в состояние, более ограниченное с точки зрения развития.

Термин «**кодировать**» или «**кодирующий**» относится к свойству, присущему конкретным последовательностям нуклеотидов в полинуклеотиде, таком как ген, кДНК или мРНК, служить в качестве матриц для синтеза других полимеров и макромолекул в биологических процессах, имеющих или определенную последовательность нуклеотидов (например, рРНК, тРНК и мРНК), или определенной последовательности аминокислот, а также к биологическим свойствам, полученным в результате этого. Таким образом, ген, кДНК или РНК кодируют белок, если в результате транскрипции и трансляции мРНК, соответствующей этому гену, вырабатывается белок в клетке или другой биологической системе. Как кодирующая цепь, нуклеотидная последовательность которой идентична последовательности мРНК, так и

некодирующая цепь, используемая в качестве матрицы для транскрипции гена или кДНК, могут называться кодирующими белок или другой продукт этого гена или кДНК.

5 Термин «усилить», «активировать», «увеличить», «расширить» или «улучшить» относится по существу к способности исследуемой молекулы опосредовать более высокий ответ (*m. e.*, эффект на последующих стадиях) по сравнению с ответом, который опосредован контролем или носителем. Иллюстративные ответы представляют собой размножение Т-клеток, активацию Т-клеток или опосредованное Т-клетками уничтожение опухолевых клеток или

10 связывание белка с его антигеном или рецептором, усиленное связывание с Fc $\gamma$  или улучшенными эффекторными функциями Fc, такими как улучшенная ADCC, CDC и/или ADCP. Усиление может представлять собой статистически значимое различие в измеренном ответе между исследуемой молекулой и контролем (или носителем) или повышением измеренного ответа, например, повышением в около 1,1, 1,2, 1,5, 2, 3, 4, 5,

15 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20 или 30 раз или более, например, в 500, 600, 700, 800, 900, 1000 раз или более (включая все целые числа и десятичные точки в интервале между и более 1, например, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8 и т. д.).

Термин «рост» обозначает результат деления и гибели клеток.

20 Термин «экспрессировать» и «экспрессия» относится к хорошо изученной транскрипции и трансляции, происходящей в клетках или *in vitro*. Таким образом, продукт экспрессии, *например* белок, экспрессируется клеткой или *in vitro* и может представлять собой внутриклеточный, внеклеточный или трансмембранный белок.

25 Термин «экспрессионный вектор» относится к вектору, который можно использовать в биологической системе или реконструированной биологической системе для управления трансляцией полипептида, кодируемого полинуклеотидной последовательностью, присутствующей в экспрессионном векторе.

Термин «dAb» или «фрагмент dAb» относится к фрагменту антитела, состоящего из домена VH (Ward et al., Nature 341:544 546 (1989)).

30 Термин «Fab» или «Fab-фрагмент» относится к фрагменту антитела, состоящему из доменов VH, CH1, VL и CL.

Термин «F(ab')<sub>2</sub>» или «F(ab')<sub>2</sub> фрагмент» относится к фрагменту антитела, содержащему два фрагмента Fab, соединенных дисульфидным мостиком в шарнирной области.

Термин «**Fd**» или «**Fd фрагмент**» относится к фрагменту антитела, состоящему из доменов VH и CH1.

Термин «**Fv**» или «**Fv-фрагмент**» относится к фрагменту антитела, состоящему из доменов VH и VL из одного плеча антитела.

5            «**Полноразмерное антитело**» состоит из двух тяжелых цепей (HC) и двух  
легких цепей (LC), соединенных между собой дисульфидными связями, а также из их  
мультимеров (например, IgM). Каждая тяжелая цепь состоит из переменного домена  
тяжелой цепи (VH) и константного домена тяжелой цепи, состоящей из субдоменов  
10            CH1, шарнирной области, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь состоит из переменного  
домена легкой цепи (VL) и константного домена легкой цепи (CL). VH и VL можно  
дополнительно подразделить на области гипервариабельности, называемые  
определяющими комплементарность областями (CDR), между которыми  
располагаются каркасные области (FR). Каждая из VH и VL состоит из трех CDR и  
15            четырех сегментов FR, расположенных в направлении от амино- к карбокси-концу в  
следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4.

Термин «**генетическая модификация**» относится к введению «чужеродного»  
(*m. e.*, внешнего или внеклеточного) гена, последовательности ДНК или РНК в клетку-  
хозяина таким образом, чтобы клетка-хозяин экспрессировала введенный ген или  
последовательность для получения желаемого вещества, обычно белка или фермента,  
20            кодируемого введенным геном или последовательностью. Введенный ген или  
последовательность можно также назвать «клонированным» или «чужеродным» геном  
или последовательностью, могут включать регуляторные или контрольные  
последовательности, функционально связанные с полинуклеотидом, кодирующим  
химерный антигенный рецептор, такие как последовательность запуска,  
25            последовательность остановки, промотор, сигнальная последовательность, секреторная  
последовательность или другие последовательности, используемые генетическим  
механизмом клетки. Ген или последовательность могут включать нефункциональные  
последовательности или последовательности без известной функции. Клетка-хозяин,  
30            принимающая и экспрессирующая ДНК или РНК, является «генетически  
сконструированной». ДНК или РНК, введенная в клетку-хозяин, может поступать из  
любого источника, включая клетки одного рода или вида, выступающего в качестве  
клетки-хозяина, или разных родов или видов.

Термин «**гетерологичный**» относится к двум или более полинуклеотидам или двум или более полипептидам, не находящимся в одинаковых отношениях друг к другу в природе.

5 Термин «**гетерологичный полинуклеотид**» относится к не встречающемуся в природе полинуклеотиду, который кодирует два или более неоантигенов, как описано в настоящем документе.

Термин «**гетерологичный полипептид**» относится к не встречающемуся в природе полипептиду, содержащему два или более неоантигенных полипептида, как описано в настоящем документе.

10 Термин «**клетка-хозяин**» обозначает любую клетку, которая содержит гетерологичную нуклеиновую кислоту. Типичная гетерологичная нуклеиновая кислота представляет собой вектор (*например*, вектор экспрессии).

Термин «**человеческое антитело**» относится к антителу, которое оптимизировано для обеспечения минимального иммунного ответа при введении  
15 человеческому индивиду. Вариабельные области человеческого антитела получают из последовательностей иммуноглобулинов человека. Если антитело содержит константную область или часть константной области, константную область также получают из последовательностей иммуноглобулинов человека. Человеческое антитело содержит вариабельные области тяжелой и легкой цепи, которые «получены из»  
20 последовательностей человеческого происхождения, если вариабельные области человеческие антитела получены из системы, в которой используют иммуноглобулин зародышевой линии человека или перестроенные гены иммуноглобулина. Такими примерами систем являются библиотеки генов человеческих иммуноглобулинов, отображаемые на фаге, и трансгенные животные, отличные от человека, такие как  
25 мыши или крысы, несущие локусы человеческих иммуноглобулинов. «Человеческое антитело», как правило, содержит аминокислотные отличия по сравнению с иммуноглобулинами, экспрессируемыми у людей, из-за различий между системами, используемыми для получения человеческих антител и локусов человеческих иммуноглобулинов, внедрения соматических мутаций, намеренного введения замен в  
30 каркасные участки и/или CDR, или и то и другое. Как правило, «человеческое антитело» по аминокислотной последовательности на по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентично аминокислотной последовательности, кодируемой генами иммуноглобулина зародышевой линии человека или перестроенными генами

иммуноглобулина. В некоторых случаях «человеческое антитело» может содержать консенсусные каркасные последовательности, полученные в результате анализов человеческих каркасных последовательностей, например, как описано в Knappik et al., (2000) J Mol Biol 296:57–86, или синтетическую HCDR3, включенную в библиотеки генов человеческих иммуноглобулинов, отображаемых на фаге, например, как описано в публикации Shi et al., (2010) J Mol Biol 397:385–96 и международной публ. пат. № WO2009/085462. Антитела, в которых по меньшей мере одна CDR получена от видов, отличных от человека, не подходят под определение человеческого антитела.

Термин «**гуманизированное антитело**» относится к антителу, в котором по меньшей мере одна CDR получена из отличного от человека вида, и по меньшей мере один каркас получен из последовательностей человеческого иммуноглобулина. Гуманизированное антитело может включать замены в каркасных областях, в результате чего каркасы могут не быть точной копией экспрессированного человеческого иммуноглобулина или человеческих генных последовательностей зародышевой линии.

Выражение «**в комбинации с**» означает, что два или более терапевтических средства вводят субъекту вместе в смеси, одновременно в виде отдельных средств или последовательно в виде отдельных средств в любом порядке.

Термин «**выделенный**» относится к однородной популяции молекул (таких как синтетические полинуклеотиды или полипептиды), которые были по существу отделены и/или очищены от других компонентов той системы, в которой данные молекулы формировались, такой как рекомбинантная клетка, а также к белку, который был подвергнут по меньшей мере одной стадии очистки или выделения. Термин «выделенное» относится к антителу, которое по существу не содержит иных клеточных материалов и/или химических веществ, и охватывает молекулы, которые выделены с большей чистотой, такой как 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% чистотой.

«**Человеческий лейкоцитарный антиген G**» или «**HLA-G**» относится к известному белку, который также называют «антигеном гистосовместимости HLA класса I, альфа-цепью G» или «антигеном G MHC класса I». Все изоформы и варианты HLA-G включены в «HLA-G». Аминокислотные последовательности различных изоформ можно найти по идентификационным номерам Uniprot от P17693-1 до P17693-7, и они представлены в таблице 1.

Таблица 1. Последовательности изоформ HLA-G

Изоформа	Идентификатор Uniprot	Белковая последовательность
HLA-G1	P17693-1	SEQ ID NO: 1 <i>MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPRIAMGYVDDTQFVRF</i> <i>DSDSACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEASSH</i> <b><i>TLQWMIGCDLGS DGRLLRGYEQYAYDGKDY LALNEDLRSWTAADTAAQISKRKC</i></b> <b><i>EAANVAEQRRAYLEGTCVEWLHRYLENGKEMLQRA D PPKTHVTHHPVFDYEATL</i></b> <i>RCWALGFYPAEILTWORGDGEDOTODVELVETRPAGDGTFOKWA AVV VPSGEEQRYT</i> <i>CHVQHEGLPEPLMLRWKQSSLP TIPIMGIVAGLVVLA AVVTGA AVA AVL WRKKSSD</i>
HLA-G2	P17693-2	SEQ ID NO: 2 <i>MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPRIAMGYVDDTQFVRF</i> <i>DSDSACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEAKPP</i> <i>KTHVTHHPVFDYEATLRCWALGFYPAEILTWORGDGEDOTODVELVETRPAGDGTFOK</i> <i>WA AVV VPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLMLRWKQSSLP TIPIMGIVAGLVVLA AVVTGA</i> <i>AVA AVL WRKKSSD</i>
HLA-G3	P17693-3	SEQ ID NO: 3 <i>MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPRIAMGYVDDTQFVRF</i> <i>DSDSACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEAKQ</i> <i>SSLPTIPIMGIVAGLVVLA AVVTGA AVA AVL WRKKSSD</i>
HLA-G4	P17693-4	SEQ ID NO: 4 <i>MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPRIAMGYVDDTQFVRF</i> <i>DSDSACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEASSH</i> <b><i>TLQWMIGCDLGS DGRLLRGYEQYAYDGKDY LALNEDLRSWTAADTAAQISKRKC</i></b> <b><i>EAANVAEQRRAYLEGTCVEWLHRYLENGKEMLQRA K QSSLP TIPIMGIVAGLVVLA</i></b> <i>AVVTGA AVA AVL WRKKSSD</i>
HLA-G5	P17693-5	SEQ ID NO: 5 <i>MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPRIAMGYVDDTQFVRF</i> <i>DSDSACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEASSH</i> <b><i>TLQWMIGCDLGS DGRLLRGYEQYAYDGKDY LALNEDLRSWTAADTAAQISKRKC</i></b> <b><i>EAANVAEQRRAYLEGTCVEWLHRYLENGKEMLQRA D PPKTHVTHHPVFDYEATL</i></b> <i>RCWALGFYPAEILTWORGDGEDOTODVELVETRPAGDGTFOKWA AVV VPSGEEQRYT</i> <i>CHVQHEGLPEPLMLRWSKEGDGGIMSVRESRSLSEDL</i>
HLA-G6	P17693-6	SEQ ID NO: 6 <i>MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPRIAMGYVDDTQFVRF</i> <i>DSDSACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEAKPP</i> <i>KTHVTHHPVFDYEATLRCWALGFYPAEILTWORGDGEDOTODVELVETRPAGDGTFOK</i> <i>WA AVV VPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLMLRWSKEGDGGIMSVRESRSLSEDL</i>
HLA-G7	P17693-7	SEQ ID NO: 7 <i>MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPRIAMGYVDDTQFVRF</i> <i>DSDSACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEASE</i>

Сигнальная последовательность: курсив; домен α1: подчеркивание; домен α2: полужирный шрифт; домен α3: двойное подчеркивание; трансмембранная область: пунктирное подчеркивание.

Термин «**модулятор**» относится к повышенной или пониженной способности тестируемой молекулы опосредовать усиленный или ослабленный ответ (т. е., эффект на последующих стадиях) по сравнению с ответом, который опосредован контролем или носителем.

Термин «**моноклональное антитело**» относится к антителу, полученному из по существу гомогенной популяции молекул антител, т. е. отдельных антител, составляющих популяцию, идентичных за исключением возможных хорошо известных изменений, таких как удаление С-концевого лизина из тяжелой цепи антитела или посттрансляционные модификации, такие как изомеризация или дезамидирование аминокислот, окисление метионина или аспарагина или дезамидирование глутамина.

Моноклональные антитела, как правило, связывают один антигенный эпитоп. Биспецифические моноклональные антитела связываются с двумя разными антигенными эпитопами. В пределах популяции антител моноклональные антитела могут иметь гетерогенное гликозилирование. Моноклональное антитело может быть

5 моноспецифическим или мультиспецифическим, например биспецифическим, моновалентным, двухвалентным или мультивалентным.

Термин «**мультиспецифический**» относится к молекуле, например, антителу, которая специфически связывается с двумя или более разными антигенами или двумя или более разными эпитопами в пределах одного антигена. Мультиспецифическая

10 молекула может иметь перекрестную реактивность с другими родственными антигенами, например, таким же антигеном от других видов (гомологов), таких как человек или обезьяна, например, *Macaca fascicularis* (яванский макак, макак) или *Pan troglodytes*, или может связывать эпитоп, который имеется в двух или более разных антигенах.

Термины «**клетка натуральный киллер**» и «**НК-клетка**» используются взаимозаменяемо и являются синонимами в настоящем документе. Термин «НК-клетка» относится к дифференцированному лимфоциту с фенотипом  $CD16^+ CD56^+$  и/или  $CD57^+ TCR^-$ . НК-клетки характеризуются способностью связываться с клетками, которые не экспрессируют «собственные» антигены МНС/HLA, и уничтожать их путем

20 активации специфических цитолитических ферментов, способностью уничтожать опухолевые клетки или другие пораженные клетки, которые экспрессируют лиганд для рецепторов, активирующих НК-клетки, а также способностью высвобождать молекулы белка, называемые цитокинами, которые стимулируют или ингибируют иммунный ответ.

Термин «**функционально связанный**» и аналогичные фразы, при их использовании в отношении нуклеиновых кислот или аминокислот, относятся к фактической связи последовательностей нуклеиновых кислот или аминокислотной последовательности, соответственно, в функциональных отношениях друг с другом. Например, функционально связанный промотор, энхансер, открытая рамка считывания,

30 5-штрих и 3-штрих нетранслируемая область (UTR) и последовательности терминации приводят к точной продукции молекулы нуклеиновой кислоты (например, РНК) и в некоторых случаях к продукции полипептида (т. е., экспрессии открытой рамки считывания). Функционально связанный пептид относится к пептиду, в котором

функциональные домены пептида размещены на соответствующем расстоянии друг от друга для того, чтобы наделить каждый домен предполагаемой функцией.

Термин **«фармацевтическая комбинация»** обозначает комбинацию двух или более активных ингредиентов, вводимых либо вместе, либо отдельно.

5 Термин **«фармацевтическая композиция»** относится к композиции, которая получается при комбинации активного ингредиента и фармацевтически приемлемого носителя.

10 Термин **«фармацевтически приемлемый носитель»** или «эксципиент» относится к ингредиенту в фармацевтической композиции, за исключением активного ингредиента, который нетоксичен для испытуемого. Примеры фармацевтически приемлемых носителей включают в себя буфер, стабилизатор или консервант.

15 Термин **«полинуклеотид»** или **«нуклеиновая кислота»** относится к синтетической молекуле, содержащей цепь нуклеотидов, ковалентно связанных через сахарофосфатную основную цепь или другую эквивалентную ковалентную химическую структуру. кДНК является типичным примером полинуклеотида. Полинуклеотид может представлять собой ДНК или молекулу РНК.

Термины **«предотвращать»**, **«предотвращение»**, **«предупреждение»** или **«профилактика»** заболевания или расстройства означают предотвращение возникновения у испытуемого расстройства.

20 Термин **«пролиферация»** относится к увеличению деления клеток, симметричному или асимметричному разделению клеток.

25 Термин **«промотор»** обозначает минимальные последовательности, необходимые для инициации транскрипции. Промотор также может включать энхансеры или репрессоры, которые усиливают или подавляют транскрипцию, соответственно.

30 Термин **«белок»** или **«полипептид»** используется взаимозаменяемо и в настоящем документе относится к молекуле, которая содержит один или более полипептидов, каждый из которых состоит из по меньшей мере двух аминокислотных остатков, связанных пептидной связью. Белок может представлять собой мономер или белковый комплекс двух или более субъединиц, причем субъединицы идентичны или отличаются друг от друга. Малые полипептиды, содержащие менее 50 аминокислотных остатков, могут называться «пептидами». Белок может представлять собой гетерологичный слитый белок, гликопротеин или белок, модифицированный посттрансляционными модификациями, такими как фосфорилирование,

ацетилирование, миристотилирование, пальмитоилирование, гликозилирование, окисление, формилирование, амидирование, цитруллинирование, полиглутамилирование, АДФ-рибозилирование, пегилирование или биотинилирование. Белок может быть рекомбинантно экспрессированным.

5 Термин **«рекомбинантный»** относится к полинуклеотидам, полипептидам, векторам, вирусам и другим макромолекулам, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными средствами.

10 Термин **«регуляторный элемент»** относится к любому генетическому элементу, действующему в цис- или транс-положении, который контролирует некоторые аспекты экспрессии последовательностей нуклеиновых кислот.

Термин **«рецидивирующий»** относится к повторному возникновению заболевания или признаков и симптомов заболевания после периода улучшения после предшествующего лечения терапевтическим средством.

15 Термин **«рефрактерный»** относится к заболеванию, которое не реагирует на лечение. Рефрактерное заболевание может быть устойчивым к лечению до или в начале лечения или рефрактерное заболевание может стать устойчивым во время лечения.

20 Термин **«одноцепочечный Fv»** или **«scFv»** относится к слитому белку, содержащему по меньшей мере один фрагмент антитела, включающего переменную область легкой цепи (VL), и по меньшей мере один фрагмент антитела, включающий переменную область тяжелой цепи (VH), причем VL и VH непрерывно соединены посредством полипептидного линкера и способны экспрессироваться в виде одноцепочечного полипептида. Если не указано иное, в контексте данного документа scFv может иметь переменные области VL и VH в любом порядке, например, относительно N-терминального и C-терминального концов полипептида, scFv может  
25 содержать VL-линкер-VH или может содержать VH- линкер-VL.

30 Термины **«специфически связывается»**, **«специфическое связывание»**, **«специфически связывает»** или **«связывает»** относятся к связыванию белковой молекулы с антигеном или эпитопом в пределах антигена с большей аффинностью, чем у других антигенов. Как правило, белковая молекула связывается с антигеном или эпитопом в пределах антигена с равновесной константой диссоциации ( $K_D$ ) около  $1 \times 10^{-7}$  М или менее, например около  $5 \times 10^{-8}$  М или менее, около  $1 \times 10^{-8}$  М или менее, около  $1 \times 10^{-9}$  М или менее, около  $1 \times 10^{-10}$  М или менее, около  $1 \times 10^{-11}$  М или менее или около  $1 \times 10^{-12}$  М или менее, как правило, со значением  $K_D$ , которое по меньшей мере в сто раз ниже его значения  $K_D$  связывания с неспецифическим антигеном

(например, BSA, казеином). В контексте неоантигенов предстательной железы, описанных в настоящем документе, термин «специфическое связывание» относится к связыванию белковой молекулы с неоантигеном предстательной железы без обнаружимого связывания с белком дикого типа, вариантом которого является неоантиген.

Термин «испытуемый» включает любого человека или не относящееся к человеку животное. Термин «не относящееся к человеку животное» включает в себя всех позвоночных, например млекопитающих и немлекопитающих, таких как приматы, овцы, собаки, кошки, лошади, коровы, куры, амфибии, рептилии и т. д. Термины «индивид» и «пациент» в настоящем документе могут применяться взаимозаменяемо.

Термины «Т-клетка» и «Т-лимфоцит» являются взаимозаменяемыми и используются в настоящем документе как синонимы. Т-клетка включает тимоциты, наивные Т-лимфоциты, Т-клетки памяти, незрелые Т-лимфоциты, зрелые Т-лимфоциты, покоящиеся Т-лимфоциты или активированные Т-лимфоциты. Т-клетка может представлять собой клетку Т-хелпер (Th), например Т-хелпер 1 (Th1) или Т-хелпер 2 (Th2). Т-клетка может представлять собой хелперную Т-клетку (HTL; CD4<sup>+</sup> Т-клетку) CD4<sup>+</sup> Т-клетку, цитотоксическую Т-клетку (CTL; CD8<sup>+</sup> Т-клетка), инфильтрирующую опухоль цитотоксическую Т-клетку (TIL; CD8<sup>+</sup> Т-клетка), CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> Т-клетку или любую другую подгруппу Т-клеток. Также включены «NKT-клетки», относящиеся к специализированной популяции Т-клеток, которые экспрессируют полуинвариантный  $\alpha\beta$  Т-клеточный рецептор, но также экспрессируют различные молекулярные маркеры, которые, как правило, ассоциированы с НК-клетками, такими как NK1.1. NKT-клетки включают NK1.1<sup>+</sup> и NK1.1<sup>-</sup>, а также клетки CD4<sup>+</sup>, CD4<sup>-</sup>, CD8<sup>+</sup> и CD8<sup>-</sup>. TCR на NKT-клетках уникален тем, что он распознает гликолипидные антигены, презентированные подобной ГКГС I молекулой CD Id. NKT-клетки могут иметь как защитные, так и вредные эффекты из-за их способности продуцировать цитокины, которые способствуют воспалению или иммунной толерантности. Кроме того, включены «гамма-дельта-Т-клетки ( $\gamma\delta$  Т-клетки)», которые относятся к специализированной популяции, а именно к небольшой подгруппе Т-клеток, имеющей на своей поверхности отдельный TCR, и в отличие от большинства Т-клеток, в которых TCR состоит из двух гликопротеиновых цепей, обозначаемых  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи TCR, Т-клеточный рецептор в Т-клетках  $\gamma\delta$  состоит из  $\gamma$ -цепи и  $\delta$ -цепи. Т-клетки  $\gamma\delta$  могут играть роль в иммунонадзоре и иммунорегуляции, и было обнаружено, что они являются важным источником IL-17 и индуцируют устойчивый цитотоксический

CD8<sup>+</sup> Т-клеточный ответ. Также включены «регуляторные Т-клетки» или «Трег», которые относятся к Т-клеткам, которые подавляют аномальный или избыточный иммунный ответ и играют роль в иммунной толерантности. Трег обычно представляют собой Foxp3-положительные CD4<sup>+</sup>Т-клетки и могут также включать Foxp3-отрицательные регуляторные Т-клетки, которые представляют собой IL-10-продуцирующие CD4<sup>+</sup>Т-клетки.

Термины «**терапевтически эффективное количество**» или «**эффективное количество**», которые являются взаимозаменяемыми в настоящем документе, относятся к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желательного терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество может изменяться в зависимости от таких факторов, как течение заболевания, возраст, пол и масса тела испытуемого, а также от способности терапевтического средства или комбинации терапевтических средств вызывать у испытуемого желаемый ответ. Пример показателей эффективного терапевтического средства или комбинации терапевтических средств включают, например, улучшение состояния здоровья пациента, сокращение размера опухоли, прекращение или замедление роста опухоли и/или отсутствие метастазирования раковых клеток в другие участки организма.

Термин «**трансдукция**» относится к введению чужеродной нуклеиновой кислоты в клетку с использованием вирусного вектора.

Термины «**лечить**», «**лечение**» или «**терапия**» заболевания или расстройства, такого как рак, относятся к достижению одной или более следующих целей: уменьшение тяжести и/или продолжительности расстройства, замедление нарастания выраженности симптомов, характерных для этого расстройства, ограничение или предотвращение рецидива расстройства у испытуемых, которые ранее страдали расстройством, либо ограничение или предотвращение рецидива симптомов у испытуемых с ранее проявлявшимися симптомами расстройства.

Термин «**опухолевая клетка**» или «**раковая клетка**» относится к раковой, предраковой или трансформированной клетке, либо *in vivo*, *ex vivo*, либо в культуре тканей, которая имеет спонтанные или индуцированные фенотипические изменения. Эти изменения не обязательно затрагивают поступление нового генетического материала. Хотя трансформация может быть вызвана инфекцией от трансформирующего вируса и встраиванием новой геномной нуклеиновой кислоты, поглощением экзогенной нуклеиновой кислоты или она может также возникать

спонтанно или после воздействия канцерогена, в результате чего происходит мутация эндогенного гена. Трансформация/рак проявляются в морфологических изменениях, иммортализации клеток, нарушении контроля роста, образовании очагов, пролиферации, злокачественности, модулировании уровней маркера, специфичных для  
 5 опухоли, инвазивности, росте опухоли у приемлемых животных-хозяев, таких как бестимусные мыши и т. п., *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo*.

Термины «**вариант**», «**мутант**» или «**измененный**» относятся к полипептиду или полинуклеотиду, который отличается от эталонного полипептида или эталонного полинуклеотида одной или несколькими модификациями, например, одной или  
 10 несколькими заменами, вставками или делециями.

Нумерация аминокислотных остатков в константной области антитела в тексте описания приведена в соответствии с каталогом ЕС, как описано в публикации Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991), если явно не указано иное.

Мутации в константных областях Ig называются следующим образом:  
 15 L351Y\_F405A\_Y407V относятся к мутациям L351Y, F405A и Y407V в одной константной области иммуноглобулина. L351Y\_F405A\_Y407 V/T394W относится к мутациям L351Y, F405A и Y407 V в первой константной области Ig, а мутации T394W — во второй константной области Ig, которые присутствуют в одном  
 20 мультимерном белке.

### **Антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G**

В описании предложены антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, моноспецифические и мультиспецифические белки, содержащие  
 25 антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, полинуклеотиды, кодирующие вышеизложенное, векторы, клетки-хозяева, а также способы получения и применения вышеизложенного. Антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, идентифицированные в данном документе, продемонстрировали несколько уникальных свойств, таких как 1) улучшенная термостабильность, 2) улучшенная  
 30 возможность развития, достигаемая путем снижения риска дезамидирования, 3) снижение иммуногенности, 4) специфичность к HLA-G, сопровождающаяся отсутствием перекрестной реактивности с HLA-A, HLA-B, HLA-C и HLA-E, и 5) способность преодолевать экспрессию лиганда иммунной контрольной точки на

опухолевых клетках и обеспечивать уничтожение опухолевых клеток с помощью цитотоксичности, опосредованной Т-клетками.

В настоящем описании предложен выделенный белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывает человеческий лейкоцитарный антиген G (HLA-G), причем антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит:

определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HCDR) 1, HCDR2 и HCDR3

5 варьируемой области тяжелой цепи (VH) с последовательностью SEQ ID NO: 50 и

определяющую комплементарность область легкой цепи (LCDR) 1, LCDR2 и LCDR3

10 варьируемой области легкой цепи (VL) с последовательностью SEQ ID NO: 51; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 52 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID

NO: 53; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 54 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID

NO: 55; или

15 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 56 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID

NO: 57; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 58 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID

NO: 59; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 60 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID

20 NO: 61; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 62 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID

NO: 63; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 64 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID

NO: 65; или

25 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 66 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID

NO: 67; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 68 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID

NO: 69.

В настоящем описании предложен выделенный белок, содержащий

30 антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, причем

антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит HCDR1,

HCDR1, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно;

SEQ ID NO: 73, 74, 91, 89 и 92 соответственно;

SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно;

SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно;

SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно;

SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно;

5 SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно;

SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно; или

SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.

В настоящем описании предложен выделенный белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, причем

10 антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68 и VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.

В настоящем описании предложен выделенный белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, причем

15 антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит

VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;

VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;

VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;

VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;

20 VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;

VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;

VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;

VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;

VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67; или

25 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

В настоящем описании предложен выделенный белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, причем

антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит

аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254,

30 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268 или 269.

В настоящем описании также предложен выделенный белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с лейкоцитарным антигеном человека G (HLA-G), причем антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит мутацию, сконструированную для обеспечения оптимизации зародышевой

линии, при этом мутацию выбирают из группы, состоящей из E1Q, L5Q, E6Q, S71P, D46E и H77N в домене VH и K30E и G66V в домене VL. В настоящем описании также предложен выделенный белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, причем антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит мутацию, сконструированную для снижения риска посттрансляционной модификации, при этом мутация представляет собой N92H в домене VL.

В настоящем описании также предложен выделенный белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, причем антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит

- VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;
- VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 53;
- VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 55;
- VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 57;
- 15 VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 59;
- VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 61;
- VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 63;
- VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 65;
- VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 67;
- 20 VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 69;
- VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 51;
- VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;
- VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 55;
- VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 57;
- 25 VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 59;
- VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 61;
- VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 63;
- VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 65;
- VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 67;
- 30 VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 69;
- VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 51;
- VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 53;
- VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;
- VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 57;

VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 59;  
VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 61;  
VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 63;  
VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 65;  
5 VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 67;  
VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 69;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 51;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 53;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 55;  
10 VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 59;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 61;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 63;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 65;  
15 VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 67;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 69;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 51;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 53;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 55;  
20 VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 61;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 63;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 65;  
25 VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 67;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 69;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 51;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 53;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 55;  
30 VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 59;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 63;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 65;

VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 67;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 69;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 51;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 53;  
5 VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 55;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 59;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 61;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;  
10 VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 65;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 67;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 69;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 51;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 53;  
15 VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 55;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 59;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 61;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 63;  
20 VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 67;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 69;  
VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 51;  
VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 53;  
25 VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 55;  
VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 59;  
VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 61;  
VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 63;  
30 VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 65;  
VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67;  
VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 69;  
VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 51;  
VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 53;

- VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 55;  
 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 57;  
 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 59;  
 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 61;  
 5 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 63;  
 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 65;  
 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 67; или  
 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

10 В настоящем описании также предложен выделенный белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, причем антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268 или 269.

15 В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой scFv.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой (scFv)<sub>2</sub>.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой Fv.

20 В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой Fab.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой F(ab')<sub>2</sub>.

25 В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой Fd.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен HLA-G, представляет собой dAb.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен HLA-G, представляет собой VHH.

30

### **HLA-G-связывающие scFv**

Любой из доменов VH и VL, идентифицированных в настоящем документе, которые связываются с HLA-G, могут быть сконструированы в формате scFv в ориентации VH-линкер-VL или VL-линкер-VH. Любой из доменов VH и VL,

идентифицированных в настоящем документе, также можно использовать для получения  $sc(Fv)_2$  структур, таких как VH-линкер-VL-линкер-VL-линкер-VH, VH-линкер-VL-линкер-VH-линкер-VL. VH-линкер-VH-линкер-VL-линкер-VL. VL-линкер-VH-линкер-VH-линкер-VL. VL-линкер-VH-линкер-VL-линкер-VH или VL-линкер-VL-линкер-VH-линкер-VH.

Домены VH и VL, идентифицированные в настоящем документе, могут быть включены в формат scFv, а связывание и термостабильность полученного scFv в отношении HLA-G можно оценить с использованием известных способов. Связывание можно оценить с использованием оборудования ProteOn XPR36, Biacore 3000 или KinExA, ИФА или анализов конкурентного связывания, известных специалистам в данной области. Связывание можно оценить с использованием очищенных супернатантов scFv или *E. coli* или лизированных клеток, содержащих экспрессированный scFv. Измеренное значение аффинности исследуемого scFv к HLA-G может изменяться при измерении в различных условиях (например, осмолярности, рН). Таким образом, измерения аффинности и других параметров связывания (например,  $K_D$ ,  $K_{on}$ ,  $K_{off}$ ), как правило, проводятся в стандартизированных условиях и с использованием стандартизированных буферов. Термостабильность может быть оценена путем нагревания исследуемого scFv при повышенных температурах, например при 50 °C, 55 °C или 60 °C, в течение периода времени, например 5 минут (мин), 10 мин, 15 мин, 20 мин, 25 мин или 30 мин, и измерения связывания исследуемого scFv с HLA-G. scFv, сохраняющий сравнимое связывание с HLA-G по сравнению с образцом ненагретого scFv, обозначается как термостабильный.

В рекомбинантных системах экспрессии линкер представляет собой пептидный линкер и может включать любую природную аминокислоту. Иллюстративные аминокислоты, которые могут быть включены в линкер, представляют собой Gly, Ser, Pro, Thr, Glu, Lys, Arg, Ile, Leu, His и The. Линкер должен иметь длину, достаточную для связывания VH и VL таким образом, чтобы они формировали правильную конформацию относительно друг друга, чтобы они сохраняли желаемую активность, такую как связывание с HLA-G.

Линкер может иметь длину около 5–50 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления линкер имеет длину около 10–40 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления линкер имеет длину около 10–35 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления линкер имеет длину около 10–30 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления линкер имеет длину около 10–25 аминокислот. В некоторых вариантах



осуществления линкер имеет длину 38 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления линкер имеет длину 39 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления линкер имеет длину 40 аминокислот. Иллюстративные линкеры, которые можно использовать, представляют собой богатые Gly линкеры, содержащие Gly и Ser, Gly и Ala линкеры, содержащие Ala и Ser линкеры и другие гибкие линкеры.

Другие последовательности линкеров могут включать участки шарнирной области иммуноглобулина CL или CH1, полученные из тяжелой или легкой цепей иммуноглобулина любого изотипа. В альтернативном варианте осуществления различные небелковые полимеры, включая полиэтиленгликоль (PEG), полипропиленгликоль, полиоксиалкилены или сополимеры полиэтиленгликоля и полипропиленгликоля, могут найти применение в качестве линкеров. Иллюстративные линкеры, которые можно использовать, приведены в **таблице 2**. Дополнительные линкеры описаны, например, в межд. публ. пат. № WO2019/060695.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит, от N-конца к C-концу, VH, первый линкер (L1) и VL (VH-L1-VL).

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит, от N-конца к C-концу, VL, L1 и VH (VL-L1- VH).

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 9.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 11.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 12.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 13.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 14.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 15.



В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 33.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 34.

5 В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 35.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 36.

10 В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 37.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 38.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 39.

15 В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 40.

**Таблица 2 Линкеры.**

Название линкера	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:
Линкер 1	GGSEGKSSGSGSESKSTGGS	8
Линкер 2	GGGSGGGS	9
Линкер 3	GGGSGGGS	10
Линкер 4	GGGSGGGS	11
Линкер 5	GGGSGGGS	12
Линкер 6	GGGSGGGS	13
Линкер 7	GGGSGGGS	14
Линкер 8	GGGSGGGS	15
Линкер 9	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	16
Линкер 10	IRPRAIGGSKPRVA	17
Линкер 11	GKGGSGKGGSGKGG	18
Линкер 12	GGKGGGKGGSGKGG	19
Линкер 13	GGKSGGKSGGKGS	20
Линкер 14	GKKGSGKKGSGKGS	21
Линкер 15	GGKSGGKGGSGKGG	22
Линкер 16	GKPGSGKPGSGKPGS	23
Линкер 17	GKPGSGKPGSGKPGS	24
Линкер 18	GKKGSGKKGSGKKGSGKGS	25
Линкер 19	STAGDTHLGGEDFD	26
Линкер 20	GEGSGEGGSGEGGS	27
Линкер 21	GGEESGEGSGEGES	28
Линкер 22	GEGESGEGESGEGES	29
Линкер 23	GGESGEGESGEGGS	30
Линкер 24	GEGESGEGESGEGESGEGES	31

Линкер 25	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	32
Линкер 26	PRGASKSGSASQTGSAPGS	33
Линкер 27	GTAAAGAGAAGGAAAGAAG	34
Линкер 28	GTSGSSGSGSGGSGSGGGG	35
Линкер 29	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	36
Линкер 30	GSGS	37
Линкер 31	APAPAPAPAP	38
Линкер 32	APAPAPAPAPAPAPAPAPAP	39
Линкер 33	AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAA	40
Линкер 34	GTEGKSSGSGSESKST	376

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HCDR) 1, HCDR2 и HCDR3 переменной области тяжелой цепи (VH) с последовательностью SEQ ID NO: 50 и

5 определяющую комплементарность область легкой цепи (LCDR) 1, LCDR2 и LCDR3 переменной области легкой цепи (VL) с последовательностью SEQ ID NO: 51; или HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 52 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 53; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 54 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID

10 NO: 55; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 56 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 57; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 58 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID

15 NO: 59; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 60 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 61; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 62 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 63; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 64 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID

20 NO: 65; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 66 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 67; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 68 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 69.

25 В некоторых вариантах осуществления scFv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно;

SEQ ID NO: 73, 74, 91, 89 и 92 соответственно;

SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно;

SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно;

SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно;

SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно;

5 SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно;

SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно; или

SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно.

10 В некоторых вариантах осуществления scFv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 73, 71, 74, 91, 89 и 92 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно.

15 В некоторых вариантах осуществления scFv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно.

20 В некоторых вариантах осуществления scFv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно.

25 В некоторых вариантах осуществления scFv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит VH SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68 и VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.

30 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59.

5 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63.

10 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

15 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 53.

20 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 59.

25 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 63.

30 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 69.



В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 67.

5 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 51.

10 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57.

15 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 61.

20 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 67.

25 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 51.

30 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 61.

5 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 65.

10 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 51.

15 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 55.

20 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61.

25 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 65.

30 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 55.

5 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 59.

10 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 65.

15 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 69.

20 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 55.

25 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 59.

30 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 69.

5 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 53.

10 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 59.

15 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 63.

20 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 69.

25 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 53.

30 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 63.

5 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 67.

10 В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 248.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 249.

15 В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 250.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 251.

20 В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 252.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 253.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 254.

25 В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 255.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 256.

30 В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 257.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 258.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 259.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 260.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 261.

5 В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 262.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 263.

10 В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 264.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 265.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 266.

15 В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 267.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 268.

20 В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 269.

### **Другие антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G**

Любой из доменов VH и VL, идентифицированных в настоящем документе, которые связываются с HLA-G, также могут быть сконструированы в формате Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fd или Fv, и их связывание с HLA-G и термостабильность можно оценить с использованием анализов, описанных в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HCDR) 1, HCDR2 и HCDR3 переменной области тяжелой цепи (VH) с последовательностью SEQ ID NO: 50 и определяющую комплементарность область легкой цепи (LCDR) 1, LCDR2 и LCDR3 переменной области легкой цепи (VL) с последовательностью SEQ ID NO: 51; или HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 52 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 53; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 54 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 55; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 56 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 57; или

5 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 58 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 59; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 60 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 61; или

10 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 62 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 63; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 64 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 65; или

HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 66 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 67; или

15 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 68 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно;

20 SEQ ID NO: 73, 71, 74, 91, 89 и 92 соответственно;

SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно;

SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно;

SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно;

SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно;

25 SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно;

SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно; или

SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно.

30 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 73, 71, 74, 91, 89 и 92 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно.

5 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно.

10 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.

15 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55.

20 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59.

25 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

30 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68 и VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51.

5 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 55.

10 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 61.

15 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 65.

20 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 51.

25 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 55.

30 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 65.

5 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 69.

10 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55.

15 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 59.

20 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 65.

25 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 69.

30 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 59.

5 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 63.

10 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 69.

15 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 53.

20 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59.

25 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 63.

30 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 53.

5 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 57.

10 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 63.

15 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 67.

20 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 53.

25 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 57.

30 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 67.

5 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 51.

10 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 57.

15 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 61.

20 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 67.

25 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 51.

30 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 61.

5 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 65.

10 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 51.

15 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 55.

20 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 61.

25 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 65.

30 В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fab содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит

определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HCDR) 1, HCDR2 и HCDR3  
 переменной области тяжелой цепи (VH) с последовательностью SEQ ID NO: 50 и  
 определяющую комплементарность область легкой цепи (LCDR) 1, LCDR2 и LCDR3  
 переменной области легкой цепи (VL) с последовательностью SEQ ID NO: 51; или  
 5 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 52 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID  
 NO: 53; или  
 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 54 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID  
 NO: 55; или  
 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 56 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID  
 10 NO: 57; или  
 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 58 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID  
 NO: 59; или  
 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 60 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID  
 NO: 61; или  
 15 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 62 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID  
 NO: 63; или  
 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 64 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID  
 NO: 65; или  
 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 66 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID  
 20 NO: 67; или  
 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 68 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID  
 NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит HCDR1, HCDR2,  
 HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

25 SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно;  
 SEQ ID NO: 73, 71, 74, 91, 89 и 92 соответственно;  
 SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно;  
 SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно;  
 SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно;  
 30 SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно;  
 SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно;  
 SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно; или  
 SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 73, 71, 74, 91, 89 и 92 соответственно.

5 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно.

10 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно.

15 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно.

20 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51.

25 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57.

30 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

5 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

10 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68 и VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51.

15 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 57.

20 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 61.

25 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 67.

30 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 55.

5 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 59.

10 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 65.

15 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 69.

20 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55.

25 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 59.

30 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 69.

5 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 53.

10 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 59.

15 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 63.

20 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 69.

25 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 53.

30 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 63.

5 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 67.

10 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 53.

15 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 57.

20 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 63.

25 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 67.

30 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 57.

5 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 61.

10 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 67.

15 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 51.

20 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 57.

25 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 61.

30 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 51.

5 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 55.

10 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 61.

15 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 65.

20 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 51.

25 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 55.

30 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 65.

5 В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления  $F(ab')_2$  содержит VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

10 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HCDR) 1, HCDR2 и HCDR3 переменной области тяжелой цепи (VH) с последовательностью SEQ ID NO: 50 и определяющую комплементарность область легкой цепи (LCDR) 1, LCDR2 и LCDR3 переменной области легкой цепи (VL) с последовательностью SEQ ID NO: 51; или

15 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 52 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 53; или  
HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 54 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 55; или  
HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 56 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID

20 NO: 57; или  
HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 58 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 59; или  
HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 60 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 61; или

25 HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 62 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 63; или  
HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 64 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 65; или  
HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 66 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID

30 NO: 67; или  
HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH SEQ ID NO: 68 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно;  
 SEQ ID NO: 73, 71, 74, 91, 89 и 92 соответственно;  
 SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно;  
 SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно;  
 5 SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно;  
 SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно;  
 SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно;  
 SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно; или  
 SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.

10 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 73, 71, 74, 91, 89 и 92 соответственно.

15 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно.

20 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно.

25 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51.

30 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59.

5 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63.

10 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

15 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68 и VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51.

20 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 57.

25 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 61.

30 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 51.

5 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 55.

10 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 61.

15 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 65.

20 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 51.

25 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55.

30 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 65.

5 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 69.

10 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 55.

15 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 59.

20 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 65.

25 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 69.

30 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59.

5 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 63.

10 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 69.

15 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 53.

20 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 59.

25 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 63.

30 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 53.

5 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 57.

10 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63.

15 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 67.

20 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 53.

25 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 57.

30 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 67.

5 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 51.

10 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 57.

15 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 61.

20 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67.

25 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 51.

30 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 61.

5 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 65.

10 В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления Fv содержит VH SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления Fd содержит VH SEQ ID NO: 50.

15 В некоторых вариантах осуществления Fd содержит VH SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления Fd содержит VH SEQ ID NO: 54.

В некоторых вариантах осуществления Fd содержит VH SEQ ID NO: 56.

В некоторых вариантах осуществления Fd содержит VH SEQ ID NO: 58.

В некоторых вариантах осуществления Fd содержит VH SEQ ID NO: 60.

20 В некоторых вариантах осуществления Fd содержит VH SEQ ID NO: 62.

В некоторых вариантах осуществления Fd содержит VH SEQ ID NO: 64.

В некоторых вариантах осуществления Fd содержит VH SEQ ID NO: 66.

В некоторых вариантах осуществления Fd содержит VH SEQ ID NO: 68.

## 25 **Гомологичные антигенсвязывающие домены и антигенсвязывающие домены с консервативными заменами**

Варианты антигенсвязывающих доменов, которые связываются с HLA-G, входят в объем настоящего изобретения. Например, варианты могут содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 или 29

30 аминокислотных замен в антигенсвязывающем домене, который связывается с HLA-G, при условии, что они сохраняют или будут иметь улучшенные свойства по сравнению с исходными антигенсвязывающими доменами. В некоторых вариантах осуществления идентичность последовательностей может составлять около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% от

антигенсвязывающих доменов, которые связываются с HLA-G по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления вариация находится в каркасных областях. В некоторых вариантах осуществления варианты формируются путем консервативных замен.

5           Например, антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, могут содержать замены в положениях остатков E1Q, L5Q, E6Q, S71P, E1Q, L5Q, E6Q и S71P в VH (нумерация остатков в соответствии с MHGB688-VH с SEQ ID NO: 52) и K30E и G66V в VL (нумерация остатков в соответствии с MHGB688-VL с SEQ ID NO: 53). Консервативные замены можно проводить в любом указанном положении, а

10           полученные варианты антигенсвязывающих доменов, которые связываются с HLA-G, исследуют на требуемые характеристики с помощью анализов, описанных в настоящем документе.

          Также предложены антигенсвязывающие домены, которые связывают HLA-G, содержащие VH и VL, которые по меньшей мере на 80% идентичны

15           VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;  
           VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;  
           VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;  
           VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;  
           VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;

20           VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;  
           VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;  
           VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;  
           VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67; или  
           VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

25           В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет 85%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет 90%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет 91%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет 91%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет 92%. В некоторых вариантах осуществления идентичность

30           составляет 93%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет 94%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет 94%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет 95%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет 96%. В некоторых вариантах осуществления

идентичность составляет 97%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет 98%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет 99%.

Процент идентичности между двумя последовательностями зависит от числа идентичных положений, общих для последовательностей (т. е. % идентичности = число идентичных положений / общее число положений  $\times$  100), с учетом числа гэпов и длины каждого гэпа, который необходимо встроить для оптимального выравнивания двух последовательностей.

Процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями можно определить с помощью алгоритма E. Meyers and W. Miller (*Comput Appl Biosci* 4:11–17 (1988)), который встроен в программу ALIGN (версия 2.0), используя таблицы массы остатков PAM120, штрафа на длину гэпа 12 и штрафа гэпа 4. Кроме того, процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями можно определить с помощью алгоритма Нидлмана — Вунша (*J Mol Biol* 48:444–453 (1970)), который встроен в программу GAP в пакете программ GCG (доступен на сайте <http://www.gcg.com>), используя либо матрицы Blossum 62, либо матрицы PAM250, а также вес гэпа 16, 14, 12, 10, 8, 6 или 4 и вес длины гэпа 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

В некоторых вариантах осуществления варианты антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, содержат одну или две консервативные замены в любой из областей CDR, сохраняя при этом требуемые функциональные свойства исходных антигенсвязывающих фрагментов, которые связываются с HLA-G.

Термин «консервативные модификации» означает модификации аминокислот, которые незначительно изменяют или влияют на характеристики связывания антитела, содержащего такие модификации аминокислот. Консервативные модификации включают замены, добавления и делеции аминокислот. Консервативные аминокислотные замены представляют собой замены, в которых аминокислота заменена аминокислотным остатком, имеющим сходную боковую цепь. Классы аминокислотных остатков, имеющие аналогичные боковые цепи, четко определены и включают аминокислоты с кислотными боковыми цепями (например, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту), основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, цистеин, серин, треонин, тирозин, триптофан), ароматическими боковыми цепями (например, фенилаланин, триптофан, гистидин, тирозин), алифатическими боковыми цепями (например, глицин, аланин,

валин, лейцин, изолейцин, серин, треонин), амидами (например, аспарагин, глутамин), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и серосодержащими боковыми цепями (цистеин, метионин). Дополнительно любой нативный остаток в полипептиде может быть замещен аланином, согласно способу, описанному ранее как аланин-сканирующий мутагенез (MacLennan *et al.*, (1988) *Acta Physiol Scand Suppl* 643:55–67; Sasaki *et al.*, (1988) *Adv Biophys* 35:1–24).

Аминокислотные замены в антителах по изобретению могут быть выполнены известными способами, например методом ПЦР-опосредованного мутагенеза (патент США № 4,683,195). Альтернативно библиотеки вариантов можно создавать, например, путем применения случайных (NNK) или неслучайных кодонов, например кодонов DVK, кодирующих 11 аминокислот (Ala, Cys, Asp, Glu, Gly, Lys, Asn, Arg, Ser, Tyr, Trp). Характеристики полученных вариантов могут быть исследованы с использованием анализов, описанных в настоящем документе.

## **Способы получения антигенсвязывающего фрагмента, который связывается с HLA-G**

Антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, предложенные в настоящем описании, можно получить с использованием различных технологий.

Например, способ гибридомы Колера и Мильштейна можно использовать для идентификации пар VH/VL, которые связываются с HLA-G. В способе гибридомы мышь или другое животное-хозяин, такое как хомячок, крысы или курица, иммунизируют с помощью HLA-G человека и/или яванского макака с последующим слиянием клеток селезенки из иммунизированных животных с клетками миеломы с использованием стандартных способов образования клеток гибридомы. Колонии, возникающие из одиночных иммортализованных клеток гибридомы, можно подвергнуть скринингу на предмет продукции антител, содержащих антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, с требуемыми свойствами, такими как специфичность связывания, перекрестная реактивность или ее отсутствие, аффинность к антигену и желаемая функциональность.

Антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G и которые получают путем иммунизации животных, отличных от человека, могут быть гуманизированы. Примеры методик гуманизации, включая отбор человеческих акцепторных каркасных областей, включают прививание CDR (патент США № 5225539), прививание SDR (патент США № 6818749), изменение поверхности

(Padlan, (1991) *Mol Immunol* 28:489–499), изменение поверхности определяющих специфичность остатков (патентная публикация США № 2010/0261620), адаптацию человеческой каркасной области (патент США № 8,748,356) или супергуманизацию (патент США № 7,709, 226). В этих способах CDR или часть остатков CDR исходных антител переносят в человеческие каркасные области, которые можно отбирать на основании их общей гомологии с исходными каркасными областями, на основании сходства длины CDR или идентичности канонической структуры или их комбинации.

Гуманизированные антигенсвязывающие домены могут быть дополнительно оптимизированы для улучшения их селективности или аффинности к требуемому антигену посредством включения измененных остатков, поддерживающих каркас, с сохранением аффинности связывания (обратных мутаций) такими методиками, которые описаны в международных патентных публикациях № WO1090/007861 и WO1992/22653, или посредством внесения вариации в любую из CDR, например, для улучшения аффинности антигенсвязывающего домена.

Для получения антигенсвязывающих фрагментов, которые связываются с HLA-G, можно применять трансгенных животных, несущих в своем геноме локусы иммуноглобулинов (Ig) человека, таких как мыши, крысы или куры, которые описаны, например, в патенте США № 6,150,584, международной патентной публикации № WO1999/45962, международных патентных публикациях № WO2002/066630, WO2002/43478, WO2002/043478 и WO1990/04036. Эндогенные локусы иммуноглобулинов у таких животных можно разрывать или удалять, и в геном животного можно встраивать по меньшей мере один полный или частичный локус иммуноглобулина человека посредством гомологичной или негомологичной рекомбинации, с применением трансхромосом или с применением минигенов. Для получения человеческих антител, направленных против выбранного антигена, с применением описанной выше технологии можно обратиться к таким компаниям, как Regeneron ([http://\\_www\\_regeneron\\_com](http://_www_regeneron_com)), Harbour Antibodies ([http://\\_www\\_harbourantibodies\\_com](http://_www_harbourantibodies_com)), Open Monoclonal Technology, Inc. (OMT) ([http://\\_www\\_omtinc\\_net](http://_www_omtinc_net)), KyMab ([http://\\_www\\_kymab\\_com](http://_www_kymab_com)), Trianni ([http://\\_www.trianni\\_com](http://_www.trianni_com)) и Ablexis ([http://\\_www\\_ablexis\\_com](http://_www_ablexis_com)).

Антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, можно выбирать из библиотеки фагового дисплея, причем фаг сконструирован с возможностью экспрессии человеческих иммуноглобулинов или их частей, таких как Fab, одноцепочечные антитела (scFv) или неспаренные либо спаренные переменные

области антител. Антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, могут быть выделены, например, из библиотеки фагового дисплея, экспрессирующей переменные области тяжелой и легкой цепей антитела в виде гибридных белков с белком оболочки бактериофага рIX, как описано в публикации Shi *et al.*, (2010) *J Mol Biol* 397:385–96 и в международной патентной публикации № WO09/085462). В библиотеках можно проводить скрининг на связывание фагов с HLA-G человека и/или яванского макака, и полученные положительные клоны могут быть дополнительно охарактеризованы, а из лизатов клонов могут быть выделены Fab или конвертированы в scFvs или другие конфигурации антигенсвязывающих фрагментов.

Получение иммуногенных антигенов и экспрессия и продукция антигенсвязывающих доменов по изобретению могут быть выполнены с применением любой приемлемой методики, такой как продукция рекомбинантного белка. Иммуногенные антигены можно вводить животным в форме очищенного белка или белковых смесей, включающих в себя целые клетки или клеточные либо тканевые экстракты, или антиген может быть образован *de novo* в организме животного из нуклеиновых кислот, кодирующих указанный антиген или его часть.

### **Конъюгация с фрагментами, продлевающими период полужизни**

Антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G согласно настоящему описанию, могут быть конъюгированы с фрагментом, продлевающим период полужизни. Примеры фрагментов, продлевающих период полужизни, представляют собой альбумин, варианты альбумина, альбумин-связывающие белки и/или домены, трансферрин и их фрагменты и аналоги, иммуноглобулины (Ig) или их фрагменты, такие как Fc-области. Известны аминокислотные последовательности вышеупомянутых фрагментов, продлевающих период полужизни. Ig или их фрагменты включают все изотипы, *т. е.*, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA и IgE.

Дополнительные фрагменты, продлевающие период полужизни, которые могут быть конъюгированы с антигенсвязывающими доменами, которые связываются с HLA-G по настоящему описанию, включают молекулы полиэтиленгликоля (PEG), такие как PEG5000 или PEG20 000, жирные кислоты и сложные эфиры жирных кислот с различной длиной цепи, например лаурат, мирилат, стеарат, арахидат, бегенат, олеат, арахидонат, октандикарбоновая кислота, тетрадекандикарбоновая кислота, октадекандикарбоновая кислота, докозандикарбоновая кислота и т. п., полилизин, октан, углеводы (декстран, целлюлоза, олиго- или полисахариды) для получения

требуемых свойств. Эти фрагменты могут представлять собой результаты прямого слияния с антигенсвязывающими доменами, которые связываются с HLA-G по настоящему описанию, и их можно создавать стандартными методиками клонирования и экспрессии. В альтернативном варианте для присоединения фрагментов к

5 полученным путем рекомбинации антигенсвязывающим доменам, которые связываются с HLA-G по настоящему описанию, можно использовать хорошо известные методы химического связывания.

Пегильный фрагмент может быть, например, конъюгирован с антигенсвязывающим доменом, который связывается с HLA-G, по настоящему описанию, путем включения цистеинового остатка в С-конец антигенсвязывающего домена, который связывается с HLA-G, по настоящему описанию, или

10 конструирования цистеинов как положения остатков, которые обращены в противоположную сторону от сайта связывания с HLA-G и прикрепления пегильной группы к цистеину с использованием хорошо известных способов.

15 В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с HLA-G, конъюгирован с фрагментом, продлевающим период полужизни.

Согласно некоторым вариантам осуществления фрагмент, продлевающий период полужизни, представляет собой иммуноглобулин (Ig), фрагмент Ig, константную область Ig, фрагмент константной области Ig, Fc-область, трансферрин,

20 альбумин, альбумин-связывающий домен или полиэтиленгликоль. В некоторых вариантах осуществления фрагмент, продлевающий период полужизни, представляет собой константную область Ig.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент, продлевающий период полужизни, представляет собой Ig.

25 В некоторых вариантах осуществления фрагмент, продлевающий период полужизни, представляет собой фрагмент Ig.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент, продлевающий период полужизни, представляет собой константную область Ig.

30 В некоторых вариантах осуществления фрагмент, продлевающий период полужизни, представляет собой фрагмент константной области Ig.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент, продлевающий период полужизни, представляет собой Fc-область.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент, продлевающий период полужизни, представляет собой альбумин.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент, продлевающий период полужизни, представляет собой альбумин-связывающий домен.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент, продлевающий период полужизни, представляет собой трансферрин.

5 В некоторых вариантах осуществления фрагмент, продлевающий период полужизни, представляет собой полиэтиленгликоль.

Фармакологические свойства антигенсвязывающих доменов, которые связываются с HLA-G, конъюгированных с фрагментом, продлевающим период полужизни, можно оценить с использованием известных *in vivo* моделей.

10

### **Конъюгация с константными областями иммуноглобулина (Ig) или фрагментами константных областей Ig**

Антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G по настоящему описанию, могут быть конъюгированы с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig для придания антителоподобных свойств, включая эффекторные функции Fc, связывание комплемента C1q, комплементзависимую цитотоксичность (CDC), связывание рецептора Fc, антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC), фагоцитоз или подавление регуляции рецепторов клеточной поверхности (например, рецептора В-клеток; BCR). Функции константной области Ig или фрагмента константной области Ig также могут быть использованы в качестве фрагмента, продлевающего период полужизни, как описано в настоящем документе. Антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G по настоящему описанию, могут быть сконструированы как стандартные полноразмерные антитела с использованием стандартных способов. Полноразмерные антитела, содержащие антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, можно дополнительно конструировать, как описано в настоящем документе.

Константная область тяжелой цепи иммуноглобулина состоит из субдоменов CH1, шарнирной области, CH2 и CH3. Домен CH1 охватывает остатки A118-V215, остатки доменов CH2 A231-K340 и остатки доменов CH3 G341-K447 на тяжелой цепи, причем нумерация остатков соответствует каталогу ЕС. В некоторых случаях G341 называют остатком домена CH2. Шарнирная область по существу определяется как область человеческого IgG1, включающая E216 и заканчивающаяся на P230. Fc-область Ig содержит по меньшей мере домены CH2 и CH3 константной области Ig и,

30

следовательно, содержит по меньшей мере область от около A231 до K447 константной области тяжелой цепи Ig.

В изобретении также предложен антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с константной областью иммуноглобулина (Ig) или фрагментом константной области Ig.

В некоторых вариантах осуществления константная область Ig представляет собой константную область тяжелой цепи

В некоторых вариантах осуществления константная область Ig представляет собой константную область легкой цепи.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент константной области Ig содержит область Fc.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент константной области Ig содержит домен CH2.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент константной области Ig содержит домен CH3.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент константной области Ig содержит домен CH2 и домен CH3.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент константной области Ig содержит по меньшей мере часть шарнира, домена CH2 и домена CH3. Часть шарнира относится к одному или более аминокислотным остаткам шарнира Ig.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент константной области Ig содержит шарнир, домен CH2 и домен CH3.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с N-концом константной области Ig или фрагментом константной области Ig.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с C-концом константной области Ig или фрагментом константной области Ig.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig посредством второго линкера (L2).

В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.



В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 25.

В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 26.

5 В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 27.

В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 28.

10 В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 29.

В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 30.

В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 31.

15 В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 32.

В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 33.

20 В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 34.

В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 35.

В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 36.

25 В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 37.

В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 38.

30 В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 39.

В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 40.

Функциональные возможности антигенсвязывающих доменов, которые связываются с HLA-G по настоящему описанию и которые конъюгированы с

константной областью Ig или фрагментом константной области Ig, можно оценить с применением нескольких известных анализов. Связывание с HLA-G можно оценить с использованием способов, описанных в настоящем документе. Измененные свойства, которые были переданы константным доменом Ig или фрагментом константной области Ig, таким как Fc-область, можно оценить в анализах связывания рецептора Fc с использованием растворимых форм рецепторов, таких как FcγRI, FcγRII, FcγRIII или FcRn, или с использованием клеточных анализов, измеряющих, например, ADCC, CDC или ADCP.

ADCC можно оценить с помощью анализа *in vitro* с использованием клеток, экспрессирующих HLA-G, в качестве клеток-мишеней и NK-клеток в качестве эффекторных клеток. Цитолиз можно обнаруживать по высвобождению метки (например, радиоактивных субстратов, флуоресцентных красителей или природных внутриклеточных белков) из лизированных клеток. В типовом анализе клетки-мишени используют в соотношении 1 клетка-мишень на 4 эффекторные клетки. Клетки-мишени предварительно метят BATDA и объединяют с эффекторными клетками и исследуемым антителом. Образцы инкубируют в течение 2 часов и измеряют лизис клеток путем измерения высвобождения BATDA в супернатант. Данные нормализуют относительно максимальной цитотоксичности с 0,67 % Тритон X-100 (Sigma Aldrich) и минимального контроля, определяемого по высвобождению BATDA из клеток-мишеней в отсутствие любого антитела.

ADCP можно оценить с использованием макрофагов, полученных из моноцитов, в качестве эффекторных клеток и любых клеток, экспрессирующих HLA-G, в качестве клеток-мишеней, которые сконструированы для экспрессии GFP или другой меченой молекулы. В типовом анализе соотношение эффекторных клеток и клеток-мишеней может составлять, например, 4:1. Эффекторные клетки можно инкубировать с клетками-мишенями в течение 4 часов с антителом по изобретению или без него. После инкубации клетки можно отделять с помощью аккутазы. Идентификацию макрофагов можно проводить с помощью антител к CD11b и к CD14, связанных с флуоресцентной меткой, а процентное значение фагоцитоза можно определять на основании % флуоресцентного ЗФБ в макрофагах CD11<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup> с помощью стандартных способов.

CDC для клеток можно измерять, например, посредством высевания клеток Дауди при  $1 \times 10^5$  клеток/лунка (50 мкл/лунка) в RPMI-B (RPMI с добавлением 1% BSA), добавления 50 мкл исследуемого белка в лунки до конечной концентрации в диапазоне 0–100 мкг/мл, инкубирования реакционной смеси в течение 15 мин при

комнатной температуре, добавления 11 мкл объединенной человеческой сыворотки в лунки и инкубирования реакционной смеси в течение 45 мин при 37 °С. Процентное значение (%) лизированных клеток можно определять как % окрашенных пропидия йодидом клеток в анализе FACS с помощью стандартных способов.

5

**Белки, содержащие антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G по настоящему описанию**

Антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G по настоящему описанию, могут быть сконструированы как моноспецифические или

10 мультиспецифические белки различных конфигураций с использованием стандартных способов.

В настоящем описании также предложен моноспецифический белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, по настоящему описанию.

15 В некоторых вариантах осуществления моноспецифический белок представляет собой антитело.

В настоящем описании также предложен мультиспецифический белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, по настоящему описанию.

20 В некоторых вариантах осуществления мультиспецифический белок является биспецифическим.

В некоторых вариантах осуществления мультимерный белок является триспецифическим.

25 В некоторых вариантах осуществления мультимерный белок является тетраспецифическим.

В некоторых вариантах осуществления мультиспецифический белок является одновалентным для связывания с HLA-G.

В некоторых вариантах осуществления мультиспецифический белок является бивалентным для связывания с HLA-G.

30 В настоящем описании также предложен выделенный мультиспецифический белок, содержащий первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и второй антигенсвязывающий домен, который связывается с опухолевым антигеном.

В некоторых вариантах осуществления лимфоцитарный антиген представляет собой Т-клеточный антиген.

В некоторых вариантах осуществления Т-клеточный антиген представляет собой CD8<sup>+</sup> антиген Т-клеток.

5 В некоторых вариантах осуществления лимфоцитарный антиген представляет собой антиген НК-клеток.

В некоторых вариантах осуществления лимфоцитарный антиген представляет собой CD3, CD3 эпсилон (CD3), CD8, KI2L4, NKG2E, NKG2D, NKG2F, BTNL3, CD186, BTNL8, PD-1, CD195 или NKG2C.

10 В некоторых вариантах осуществления лимфоцитарный антиген представляет собой CD3ε.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержит scFv, (scFv)<sub>2</sub>, Fv, Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fd, dAb или VHH.

15

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержит Fab.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержит F(ab')<sub>2</sub>.

20

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержит VHH.

25

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержит Fv.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержит Fd.

30

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержит scFv.

В некоторых вариантах осуществления scFv содержит, от N-конца к C-концу, VH, первый линкер (L1) и VL (VH-L1-VL) или VL, L1 и VH (VL-L1-VH).

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит около 5–50 аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит около 5–40 аминокислот.

5 В некоторых вариантах осуществления L1 содержит около 10–30 аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит около 10–20 аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.

10 В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 9.

15 В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 11.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 12.

20 В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 13.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 14.

25 В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 15.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 17.

30 В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 18.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 19



В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 37.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 38.

5 В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 39.

В некоторых вариантах осуществления L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 40.

10 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 70, 73, 75, 78, 81 или 85, HCDR2 с SEQ ID NO: 71, 76, 79, 82 или 86, HCDR3 с SEQ ID NO: 72, 74, 77, 80, 83, 84 или 87, LCDR1 с SEQ ID NO: 88, 91, 93, 95, 97, 99, 101 или 102, LCDR2 SEQ ID NO: 89 или 103, LCDR3 с SEQ ID NO: 90, 92, 94, 96, 98, 100 или 104.

15 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно;

SEQ ID NO: 73, 71, 74, 91, 89 и 92 соответственно;

SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно;

20 SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно;

SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно;

SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно;

SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно;

SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно; или

25 SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53.

30 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61.

5 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

10 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

15 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68 и VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит:

VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;

VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 53;

20 VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 55;

VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 57;

VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 59;

VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 61;

VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 63;

25 VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 65;

VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 67;

VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 69;

VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 51;

VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;

30 VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 55;

VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 57;

VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 59;

VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 61;

VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 63;

VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 65;  
VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 67;  
VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 69;  
VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 51;  
5 VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 53;  
VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;  
VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 59;  
VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 61;  
10 VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 63;  
VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 65;  
VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 67;  
VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 69;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 51;  
15 VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 53;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 55;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 59;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 61;  
20 VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 63;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 65;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 67;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 69;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 51;  
25 VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 53;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 55;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 61;  
30 VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 63;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 65;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 67;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 69;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 51;

- VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 53;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 55;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 59;  
5 VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 63;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 65;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 67;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 69;  
10 VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 51;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 53;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 55;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 59;  
15 VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 61;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 65;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 67;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 69;  
20 VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 51;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 53;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 55;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 59;  
25 VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 61;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 63;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 67;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 69;  
30 VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 51;  
VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 53;  
VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 55;  
VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 59;

- VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 61;  
 VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 63;  
 VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 65;  
 VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67;  
 5 VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 69;  
 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 51;  
 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 53;  
 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 55;  
 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 57;  
 10 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 59;  
 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 61;  
 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 63;  
 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 65;  
 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 67; или  
 15 VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268 или 269.

- 20 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 248.

- В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ  
 25 ID NO: 249.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 250.

- 30 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 251.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 252.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 253.

5 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 254.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 255.

10 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 256.

15 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 257.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 258.

20 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 259.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 260.

25 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 261.

30 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 262.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 263.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 264.

5 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 265.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 266.

10 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 267.

15 В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 268.

В некоторых вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 269.

20 В некоторых вариантах осуществления второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 361, HCDR2 с SEQ ID NO: 362, HCDR3 с SEQ ID NO: 363, LCDR1 с SEQ ID NO: 367, LCDR2 с SEQ ID NO: 368 и LCDR3 с SEQ ID NO: 370; VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 340, 341, 342, 343, 344 или 345; HCDR1 с SEQ ID NO: 364, HCDR2 с SEQ ID NO: 365, HCDR3 с SEQ ID NO: 366, 25 LCDR1 с SEQ ID NO: 371, LCDR2 с SEQ ID NO: 372 и LCDR3 с SEQ ID NO: 373; или VH с SEQ ID NO: 346 или 348 и VL с SEQ ID NO: 347 или 349.

В других вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с первой константной областью иммуноглобулина (Ig) или фрагментом первой константной области Ig, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с опухолевым антигеном, 30 конъюгирован со второй константной областью иммуноглобулина (Ig) или фрагментом второй константной области Ig.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент первой константной области Ig и/или фрагмент второй константной области Ig содержит Fc-область.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент первой константной области Ig и/или фрагмент второй константной области Ig содержит домен СН2.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент первой константной области Ig и/или фрагмент второй константной области Ig содержит домен СН3.

5 В некоторых вариантах осуществления фрагмент первой константной области Ig и/или фрагмент второй константной области Ig содержит домен СН2 и домен СН3.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент первой константной области Ig и/или фрагмент второй константной области Ig содержит по меньшей мере часть шарнирной области, домен СН2 и домен СН3.

10 В некоторых вариантах осуществления фрагмент константной области Ig содержит шарнир, домен СН2 и домен СН3.

В некоторых вариантах осуществления мультиспецифический белок дополнительно содержит второй линкер (L2) между первым антигенсвязывающим доменом, который связывается с HLA-G, и первой константной областью Ig или фрагментом первой константной области Ig, и между вторым антигенсвязывающим доменом, который связывается с лимфоцитарным антигеном, и второй константной областью Ig или фрагментом второй константной области Ig.

В некоторых вариантах осуществления L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.

В некоторых вариантах осуществления первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig представляют собой изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

В некоторых вариантах осуществления первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig представляют собой изотип IgG1.

В некоторых вариантах осуществления первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig представляют собой изотип IgG2.

30 В некоторых вариантах осуществления первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig представляют собой изотип IgG3.

В некоторых вариантах осуществления первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig представляют собой изотип IgG4.

5 Первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig могут быть дополнительно сконструированы, как описано в настоящем документе.

10 В некоторых вариантах осуществления первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig содержат по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к ослаблению связывания мультиспецифического белка с FcγR.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к ослаблению связывания мультиспецифического белка с FcγR, выбирают из группы, состоящей из L235A/D265S, F234A/L235A, L234A/L235A, L234A/L235A/D265S, V234A/G237A/ P238S/H268A/V309L/A330S/P331S, F234A/L235A, S228P/F234A/ L235A, N297A, V234A/G237A, K214T/E233P/ L234V/L235A/G236-  
15 делеция/A327G/P331A/D365E/L358M, H268Q/V309L/A330S/P331S, S267E/L328F, L234F/L235E/D265A, L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S, S228P/F234A/L235A/G237A/P238S и S228P/F234A/L235A/G236-делеция/G237A/P238S, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС. В некоторых вариантах  
20 осуществления по меньшей мере одна мутация, которая приводит к ослаблению связывания мультиспецифического белка с FcγR, представляет собой L234A/L235A/D265S.

В некоторых вариантах осуществления первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент  
25 второй константной области Ig содержат по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к усилению связывания мультиспецифического белка с Fcγ-рецептором (FcγR).

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к усилению связывания мультиспецифического белка с FcγR, выбирают из  
30 группы, состоящей из S239D/I332E, S298A/E333A/K334A, F243L/R292P/Y300L, F243L/R292P/Y300L/P396L, F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L и G236A/S239D/I332E, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

В некоторых вариантах осуществления FcγR представляет собой FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB или FcγRIII или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig содержат по меньшей мере одну мутацию, которая модулирует период полужизни мультиспецифического белка.

5 В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну мутацию, которая модулирует период полужизни мультиспецифического белка, выбирают из группы, состоящей из H435A, P257I/N434H, D376V/N434H, M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F, T308P/N434A и H435R, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

10 В некоторых вариантах осуществления мультиспецифический белок содержит по меньшей мере одну мутацию в домене СН3 первой константной области Ig или в домене СН3 фрагмента первой константной области Ig и/или по меньшей мере одну мутацию в домене СН3 второй константной области Ig или в домене СН3 фрагмента второй константной области Ig.

15 В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну мутацию в домене СН3 первой константной области Ig или в домене СН3 фрагмента первой константной области Ig и/или по меньшей мере одну мутацию в домене СН3 второй константной области Ig или в домене СН3 фрагмента второй константной области Ig выбирают из группы, состоящей из T350V, L351Y, F405A, Y407V, T366Y, T366W, F405W, T394W, T394S, Y407T, Y407A, T366S/L368A/Y407V, L351Y/F405A/Y407V,  
20 T366I/K392M/T394W, F405A/Y407V, T366L/K392M/T394W, L351Y/Y407A, T366A/K409F, L351Y/Y407A, T366V/K409F, T366A/K409F, T350V/L351Y/F405A/Y407V и T350V/T366L/K392L/T394W, причем нумерация остатков соответствует индексу EU.

25 В некоторых вариантах осуществления первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig содержат следующие мутации

L235A\_D265S\_T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V в первой константной области Ig и L235A\_D265S\_T350V\_T366L\_K392L\_T394W во второй константной области Ig; или

30 L235A\_D265S\_T350V\_T366L\_K392L\_T394W в первой константной области Ig и L235A\_D265S\_T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V во второй константной области Ig.

**Получение мультиспецифических белков, которые содержат антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с HLA-G**

Антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с HLA-G по настоящему описанию, можно конструировать как мультиспецифические антитела, которые также входят в объем настоящего изобретения.

Антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с HLA-G, можно конструировать как полноразмерные мультиспецифические антитела, которые созданы с помощью обмена Fab-плечами, в которых замены вводят в два моноспецифических двухвалентных антитела в пределах константного участка Ig домена СНЗ, который способствует обмену Fab-плечами *in vitro*. В этих способах два моноспецифических бивалентных антитела конструируют так, чтобы они имели определенные замены в домене СНЗ, способствующие стабильности гетеродимера; антитела инкубируют вместе в восстановительных условиях, достаточных для обеспечения подверженности цистеинов в шарнирной области изомеризации дисульфидной связи; получая таким образом биспецифическое антитело в результате обмена плечами Fab. Условия инкубации можно оптимально возвращать к невозстанавливающим. Примерами восстанавливающих агентов, которые можно использовать, являются 2-меркаптоэтиламин (2-MEA), дитиотреитол (DTT), дитиоэритрит (DTE), глутатион, трис(2-карбокситил)фосфин (TCSP), L-цистеин и бета-меркаптоэтанол, предпочтительно восстанавливающий агент выбирают из группы, состоящей из: 2-меркаптоэтиламина, дитиотреитола и трис(2-карбокситил)фосфина. Например, можно использовать инкубирование в течение по меньшей мере 90 мин при температуре по меньшей мере 20 °C в присутствии по меньшей мере 25 мМ 2-MEA или в присутствии по меньшей мере 0,5 мМ дитиотреитола при уровне pH 5–8, например при pH = 7,0 или при pH = 7,4.

Мутации СНЗ, которые можно использовать, включают в себя такие технологии, как мутации «выступ во впадину» (Genentech), электростатически спариваемые мутации (Chugai, Amgen, NovoNordisk, Oncomed), сконструированное посредством обмена цепей доменное тело (SEEDbody) (EMD Serono) и другие асимметричные мутации (например, Zymeworks).

Мутации типа «выступ во впадину» описаны, например, в WO1996/027011 и включают мутации на границе раздела области СНЗ, в которой аминокислоту с небольшой боковой цепью (впадина) вносят в первую область СНЗ, а аминокислоту с большой боковой цепью (выступ) вносят во вторую область СНЗ, что приводит к предпочтительному взаимодействию между первой областью СНЗ и второй областью СНЗ. Примерами мутаций в области СНЗ, образующих выступ и впадину, являются

T366Y/F405A, T366W/F405W, F405W/Y407A, T394W/Y407T, T394S/Y407A, T366W/T394S, F405W/T394S и T366W/T366S\_L368A\_Y407V.

Образование гетеродимера тяжелой цепи можно стимулировать путем использования электростатических взаимодействий посредством замены положительно заряженных остатков в первой области СНЗ и отрицательно заряженных остатков во второй области СНЗ, как описано в US2010/0015133, US2009/0182127, US2010/028637 или US2011/0123532.

Другими асимметричными мутациями, которые можно применять для стимуляции гетеродимеризации тяжелых цепей, являются L351Y\_F405A\_Y407V/T394W, T366I\_K392M\_T394W/F405A\_Y407V, T366L\_K392M\_T394W/F405A\_Y407V, L351Y\_Y407A/T366A\_K409F, L351Y\_Y407A/T366V\_K409F, Y407A/T366A\_K409F, or T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V/T350V\_T366L\_K392L\_T394W, как описано в US2012/0149876 or US2013/0195849 (Zymeworks).

Мутации SEEDbody включают замещение выбранных остатков IgG остатками IgA для стимуляции гетеродимеризации тяжелых цепей, как описано в US20070287170.

Другими примерами мутаций, которые можно использовать, являются R409D\_K370E/D399K\_E357K, S354C\_T366W/Y349C\_T366S\_L368A\_Y407V, Y349C\_T366W/S354C\_T366S\_L368A\_Y407V, T366K/L351D, L351K/Y349E, L351K/Y349D, L351K/L368E, L351Y\_Y407A/T366A\_K409F, L351Y\_Y407A/T366V\_K409F, K392D/D399K, K392D/E356K, K253E\_D282K\_K322D/D239K\_E240K\_K292D, K392D\_K409D/D356K\_D399K, описанные в WO2007/147901, WO 2011/143545, WO2013157954, WO2013096291 и US2018/0118849.

Мутации Duobody® (Genmab) описаны, например, в US9150663 и US2014/0303356 и включают в себя мутации F405L/K409R, дикого типа/F405L\_R409K, T350I\_K370T\_F405L/K409R, K370W/K409R, D399AFGHILMNRSTVWY/K409R, T366ADEFHILMQVY/K409R, L368ADEFHILNRSTVQ/K409AGRH, D399FHKRQ/K409AGRH, F405IKLSTVW/K409AGRH и Y407LWQ/K409AGRH.

Дополнительные биспецифические или мультиспецифические структуры, в которые могут быть встроены антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, включают иммуноглобулины с двойным переменным доменом (DVD) (международная патентная публикация № WO2009/134776; DVD представляют собой полноразмерные антитела, содержащие тяжелую цепь, имеющую структуру VH1-

линкер-VH2-CH, и легкую цепь, имеющую структуру VL1-линкер-VL2-CL; где линкер необязателен), структуры, включающие различные димеризационные домены для соединения двух плеч антител с разной специфичностью, такие как «лейциновая застёжка» или коллагеновые димеризационные домены (международная патентная публикация № WO2012/022811, патент США № 5,932,448; патент США № 6,833,441), два или более доменных антитела (dAb), конъюгированных вместе, диатела, антитела, имеющие только тяжелую цепь, такие как антитела верблюжьего типа и сконструированные антитела верблюжьего типа, антитела с двойным нацеливанием (DT)-Ig (GSK/Domantis), антитело «два в одном» (Genentech), поперечно сшитые Mab (Karmanos Cancer Center), mAb2 (F-Star) и CovX-тело (CovX/Pfizer), IgG-подобные биспецифические антитела (InnClone/Eli Lilly), Ts2Ab (MedImmune/AZ) и бсАт (Zymogenetics), HERCULES (Biogen Idec) и TvAb (Roche), слитые белки ScFv/Fc (Academic Institution), SCORPION (Emergent BioSolutions/Trubion, Zymogenetics/BMS), перенацеливающиеся антитела с двойной аффинностью (Fc-DART) (MacroGenics) и Dual(ScFv<sub>2</sub>-Fab (National Research Center for Antibody Medicine, Китай), антитела «двойного действия» или Bis-Fab (Genentech), Dock-and-Lock (DNL) (ImmunoMedics), двухвалентное биспецифическое антитело (BiotecnoI) и Fab-Fv (UCB-Celltech). Антитела на основе ScFv, диател и доменные антитела включают в себя, без ограничений, биспецифический Т-клеточный активатор (BiTE) (Micromet), тандемное диатело (Tandab) (Affimed), перенацеливающиеся антитела с двойной аффинностью (DART) (MacroGenics), одноцепочечное диатело (Academic), TCR-подобные антитела (AIT, ReceptorLogics), слитый белок ScFv и человеческого сывороточного альбумина (Merrimack), COMBODY (Epigen Biotech), нанотела с двойным нацеливанием (Ablynx), доменные антитела с двойным нацеливанием, имеющие только тяжелую цепь.

Антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G по настоящему описанию, также могут быть сконструированы как мультиспецифические белки, которые содержат три полипептидных цепи. В таких конструкциях по меньшей мере один антигенсвязывающий домен находится в форме scFv. Иллюстративные конструкции включают (где «1» обозначает первый антигенсвязывающий домен, «2» обозначает второй антигенсвязывающий домен и «3» обозначает третий антигенсвязывающий домен):

Конструкция 1: Цепь А) scFv1-CH2-CH3; Цепь В) VL2-CL; Цепь С) VH2-CH1-шарнир-CH2-CH3

Конструкция 2: Цепь А) scFv1-шарнир-CH2-CH3; Цепь В) VL2-CL; Цепь С) VH2-CH1-шарнир-CH2- CH3

Конструкция 3: Цепь А) scFv1-CH1-шарнир-CH2-CH3; Цепь В) VL2-CL; Цепь С) VH2-CH1-шарнир-CH2-CH3

5           Конструкция 4: Цепь А) CH2-CH3-scFv1; Цепь В) VL2-CL; Цепь С) VH2-CH1-шарнир-CH2-CH3

Конструирование CH3 может быть включено в конструкции 1–4, такие как мутации L351Y\_F405A\_Y407V/T394W, T366I\_K392M\_T394W/F405A\_Y407V, T366L\_K392M\_T394W/F405A\_Y407V, L351Y\_Y407A/T366A\_K409F, L351Y\_Y407A/T366V\_K409F, Y407A/T366A\_K409F или T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V/T350V\_T366L\_K392L\_T394W, как описано в US2012/0149876 или US2013/0195849 (Zymeworks).

### **Изотипы, аллотипы и Fc-конструирование**

15           Константная область Ig или фрагмент константной области Ig, такой как Fc-область, которая присутствует в белках по настоящему изобретению, может представлять собой любой аллотип или изотип.

В некоторых вариантах осуществления константная область Ig или фрагмент константной области Ig представляет собой изотип IgG1.

20           В некоторых вариантах осуществления константная область Ig или фрагмент константной области Ig представляет собой изотип IgG2.

В некоторых вариантах осуществления константная область Ig или фрагмент константной области Ig представляет собой изотип IgG3.

25           В некоторых вариантах осуществления константная область Ig или фрагмент константной области Ig представляет собой изотип IgG4.

Константная область Ig или фрагмент константной области Ig могут иметь любой аллотип. Ожидается, что аллотип не влияет на свойства константной области Ig, такие как связывание или опосредованные Fc эффекторные функции. Иммуногенность терапевтических протеинов, содержащих константные области Ig или их фрагменты, связана с повышенным риском реакций на инфузию и сниженной длительностью терапевтического ответа (Baert *et al.*, (2003) *N Engl J Med* 348:602–08). Степень, с которой терапевтические белки, содержащие константные области Ig или их фрагменты, индуцируют иммунный ответ в организме-хозяине, отчасти может определяться аллотипом константной области Ig (Stickler *et al.*, (2011) *Genes and*

*Immunity* 12:213-21). Аллотип константной области Ig связан с вариациями аминокислотной последовательности в конкретных положениях в последовательностях константных областей антитела. В таблице 3 приведены выбранные аллотипы IgG1, IgG2 и IgG4.

5

Таблица 3

Аллотип	Аминокислотный остаток в позиции различия (нумерация остатков: каталог ЕС)							
	IgG2		IgG4		IgG1			
	189	282	309	422	214	356	358	431
G2m(n)	T	M						
G2m(n-)	P	V						
G2m(n)/(n-)	T	V						
nG4m(a)			K	P				
G1m(17)					K	E	M	A
G1m(17,1)					K	D	K	A
G1m(3)					P	E	M	A

Циркулирующие в крови эндогенные карбоксипептидазы могут удалять С-концевой лизин (CTL) из константной области Ig (Cai *et al.*, (2011) *Biotechnol Bioeng* 108:404-412). Удаление CTL во время получения можно контролировать на уровне ниже максимального посредством контроля концентрации внеклеточного  $Zn^{2+}$ , этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) или ЭДТА- $Fe^{3+}$ , как описано в патентной публикации США № US20140273092. Содержание CTL белков можно измерять с помощью известных способов.

10

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с HLA-G и конъюгирован с константной областью Ig, имеет содержание С-концевого лизина от около 10% до около 90%. В некоторых вариантах осуществления содержание С-концевого лизина составляет от около 20% до около 80%. В некоторых вариантах осуществления содержание С-концевого лизина составляет от около 40% до около 70%. В некоторых вариантах осуществления содержание С-концевого лизина составляет от около 55% до около 70%. В некоторых вариантах осуществления содержание С-концевого лизина составляет около 60%.

20

Мутации Fc-области можно получить в антигенсвязывающих доменах, которые связываются с HLA-G, конъюгированных с константной областью Ig или с фрагментом константной области Ig, для модуляции их эффекторных функций, таких как ADCC,

25

ADCP и/или ADCP, и/или фармакокинетических свойств. Это может быть достигнуто путем введения в Fc мутации (-ий), модулирующей (-их) связывание мутантного Fc с активирующими рецепторами FcγRs (FcγRI, FcγRIIa, FcγRIII), ингибиторным FcRIIb и/или с FcRn.

5 В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig, содержит по меньшей мере одну мутацию в константной области Ig или в фрагменте константной области Ig.

10 В некоторых вариантах осуществления указанная по меньшей мере одна мутация находится в области Fc.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig, содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или  
15 пятнадцать мутаций в Fc-области.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с константной областью Ig или с фрагментом константной области Ig, содержит по меньшей мере одну мутацию в Fc-области, которая модулирует связывание антитела с FcRn.

20 Положения Fc, в которые можно вводить мутации для модуляции периода полужизни (например, связывания с FcRn), включают в себя положения 250, 252, 253, 254, 256, 257, 307, 376, 380, 428, 434 и 435. Примерами мутаций, которые можно вводить по отдельности или в комбинации, являются мутации T250Q, M252Y, I253A, S254T, T256E, P257I, T307A, D376V, E380A, M428L, H433K, N434S, N434A, N434H,  
25 N434F, H435A и H435R. Примерами мутаций, которые можно вводить по отдельности или в комбинации для увеличения периода полужизни, являются мутации M428L/N434S, M252Y/S254T/T256E, T250Q/M428L, N434A и T307A/E380A/N434A. Примерами мутаций, которые можно вводить по отдельности или в комбинации для  
30 уменьшения периода полужизни, являются мутации H435A, P257I/N434H, D376V/N434H, M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F, T308P/N434A и H435R.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig, содержит мутацию M252Y/S254T/T256E.

В других вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig, содержит по меньшей мере одну мутацию в Fc-области, которая ослабляет связывание белка с активирующим Fc $\gamma$ -рецептором (Fc $\gamma$ R) и/или снижает эффекторные функции Fc, такие как связывание C1q, комплемент-зависимая цитотоксичность (CDC), антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность (ADCC) или фагоцитоз (ADCP).

Положения Fc, в которые можно вводить мутации для уменьшения связывания белка с активирующим Fc $\gamma$ R и последующего снижения эффекторной функции, включают в себя положения 214, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 265, 267, 268, 270, 295, 297, 309, 327, 328, 329, 330, 331 и 365. Примерами мутаций, которые можно вводить по отдельности или в комбинации, являются мутации K214T, E233P, L234V, L234A, делеция G236, V234A, F234A, L235A, G237A, P238A, P238S, D265A, S267E, H268A, H268Q, Q268A, N297A, A327Q, P329A, D270A, Q295A, V309L, A327S, L328F, A330S и P331S в IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Примерами комбинаций мутаций, которые приводят к получению белков со сниженной ADCC, являются мутации L234A/L235A в IgG1, L234A/L235A/D265S в IgG1, V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S в IgG2, F234A/L235A в IgG4, S228P/F234A/L235A в IgG4, N297A во всех изотипах Ig, V234A/G237A в IgG2, K214T/E233P/L234V/L235A/G236- делеция/A327G/P331A/D365E/L358M в IgG1, H268Q/V309L/A330S/P331S в IgG2, S267E/L328F в IgG1, L234F/L235E/D265A в IgG1, L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S в IgG1, S228P/F234A/L235A/G237A/P238S в IgG4 и S228P/F234A/L235A/G236- делеция/G237A/P238S в IgG4. Можно также использовать гибридные Fc-домены IgG2/4, такие как Fc с остатками 117–260 из IgG2 и остатками 261–447 из IgG4.

Примером мутации, которая приводит к получению белков со сниженной CDC, является мутация K322A.

Для усиления стабильности IgG4 можно выполнять известную мутацию S228P в IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig, содержит по меньшей мере одну мутацию, которую выбирают из группы, состоящей из K214T, E233P, L234V, L234A, делеция G236, V234A, F234A,

L235A, G237A, P238A, P238S, D265A, S267E, H268A, H268Q, Q268A, N297A, A327Q, P329A, D270A, Q295A, V309L, A327S, L328F, K322, A330S и P331S.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig, содержит мутацию L234A/L235A/D265S.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig, содержит мутацию L234A/L235A.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig, содержит по меньшей мере одну мутацию в Fc-области, которая усиливает связывание белка с Fc $\gamma$ -рецептором (Fc $\gamma$ R) и/или усиливает эффекторные функции Fc, такие как связывание C1q, комплемент-зависимая цитотоксичность (CDC), антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность (ADCC) и/или фагоцитоз (ADCP).

Положения Fc, в которые можно вводить мутации для увеличения связывания белка с активирующим Fc $\gamma$ R и/или для усиления эффекторных функций Fc, включают в себя положения 236, 239, 243, 256, 290, 292, 298, 300, 305, 312, 326, 330, 332, 333, 334, 345, 360, 339, 378, 396 или 430 (нумерация остатков соответствует каталогу ЕС).

Типовые мутации, которые можно проводить по отдельности или в комбинации, представляют собой G236A, S239D, F243L, T256A, K290A, R292P, S298A, Y300L, V305L, K326A, A330K, I332E, E333A, K334A, A339T и P396L. Примерами комбинаций мутаций, которые позволяют получать белки с повышенными ADCC или ADCP, являются S239D/I332E, S298A/E333A/K334A, F243L/R292P/Y300L, F243L/R292P/Y300L/P396L, F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L и G236A/S239D/I332E.

Положения Fc, в которые можно вводить мутации для усиления CDC, включают в себя положения 267, 268, 324, 326, 333, 345 и 430. Примерами мутаций, которые можно выполнять по отдельности или в комбинации, являются S267E, F1268F, S324T, K326A, K326W, E333A, E345K, E345Q, E345R, E345Y, E430S, E430F и E430T.

Примерами комбинаций мутаций, которые позволяют получать белки с уменьшением CDC, являются K326A/E333A, K326W/E333A, H268F/S324T, S267E/H268F, S267E/S324T и S267E/H268F/S324T.

Конкретные мутации, описанные в данном документе, представляют собой мутации по сравнению с аминокислотными последовательностями дикого типа IgG1, IgG2 и IgG4 SEQ ID NO: 130, 131 и 132 соответственно.

SEQ ID NO: 486, IgG1 дикого типа

5 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ  
SS  
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL  
GG  
PSVFLFPPKPKDTLMISRT  
10 PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN  
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK  
GQPREPQVYTLPPSRDE  
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS  
RW

15 QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 487; IgG2 дикого типа

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ  
SS  
GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVNDHKPSNTKVDKTVKCCVECPCPPAPPVAGPS  
20 VF  
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS  
TFR  
VVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEM  
TKN

25 QVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ  
QGN  
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 488; IgG4 дикого типа

30 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ  
SS  
GLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGP  
SV  
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN  
STY

RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE  
MTK

NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW  
QEG

5 NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

Связывание антитела с Fc $\gamma$ R или FcRn можно оценивать с использованием проточной цитометрии на клетках, сконструированных для экспрессии каждого из рецепторов. В примере анализа связывания в 96-луночный планшет высевают 2 x 10<sup>5</sup> клеток на лунку и блокируют буферным раствором для окрашивания с бычьим сывороточным альбумином (БСА) (BD Biosciences, San Jose, USA) в течение 30 мин при 4 °C. Клетки инкубируют с исследуемым антителом на льду в течение 1,5 ч при 4 °C. После двукратного промывания буферным раствором для окрашивания БСА клетки инкубируют с меченым R-фикоэритрином (R-PE) вторичным антителом к человеческому IgG (Jackson Immunoresearch Laboratories) в течение 45 мин при 4 °C.

15 Клетки дважды промывают в буферном растворе для окрашивания, после чего повторно суспендируют в 150 мкл буферного раствора для окрашивания, содержащего разведенный в соотношении 1:200 краситель DRAQ7 для живых/мертвых клеток (Cell Signaling Technology, Danvers, USA). Сигналы PE и DRAQ7 от окрашенных клеток с определением с помощью проточного цитометра Miltenyi MACSQuant (Miltenyi Biotec,

20 г. Оберн, США) с применением, соответственно, каналов B2 и B4. Проводят гейтинг живых клеток по исключению DRAQ7, а среднее геометрическое значение сигналов флуоресценции определяют для по меньшей мере 10000 случаев живых клеток. Для анализа используют программное обеспечение FlowJo (Tree Star). По данным строят график зависимости логарифма концентрации антитела от среднего значения сигналов

25 флуоресценции. Проводят нелинейный регрессионный анализ.

### Гликоинженерия

Способность антигенсвязывающего домена, который связывается с HLA-G, конъюгированного с константной областью Ig или с фрагментом константной области

30 Ig, опосредовать ADCC можно повысить путем конструирования константной области Ig или фрагмента олигосахаридного компонента константной области Ig. IgG1 или IgG3 человека претерпевают N-гликозилирование по Asn297 большинством гликанов в хорошо известных 2-антенарных формах G0, G0F, G1, G1F, G2 или G2F. Константную область Ig, содержащую белки, можно продуцировать несконструированными

клетками CHO, как правило, имеют содержание фукозы в гликанах по меньшей мере около 85%. Удаление коровой фукозы из олигосахаридов типа 2-антеннарного комплекса, присоединенной к антигенсвязывающему домену, который связывается с HLA-G, конъюгированному с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig, усиливает ADCC белка посредством улучшенного связывания Fc $\gamma$ RIIIa без изменения связывания антигенов или активности CDC. Такие белки можно получать, используя различные способы, которые, по имеющимся данным, приводят к успешной экспрессии иммуноглобулинов с относительно высокой степенью дефукозилирования, несущих Fc-олигосахариды типа 2-антеннарного комплекса, такие как контроль осмоляльности культуральной среды (Konno *et al.*, *Cytotechnology* 64(:249-65, 2012), применение в качестве линии клеток-хозяев вариантной линии CHO Lec13 (Shields *et al.*, *J Biol Chem* 277:26733-26740, 2002), применение в качестве линии клеток-хозяев вариантной линии клеток CHO EB66 (Olivier *et al.*, *MAbs*;2(4): 405–415, 2010; PMID:20562582), применение линии клеток гибридомы крыс YB2/0 в качестве линии клеток-хозяев (Shinkawa *et al.*, *J Biol Chem* 278:3466-3473, 2003), введение малой интерферирующей РНК, специфичной к гену 1,6-фукозилтрансферазы (*FUT8*) (Mori *et al.*, *Biotechnol Bioeng* 88:901-908, 2004), или коэкспрессия  $\beta$ -1,4-N-ацетилглюкозаминилтрансферазы III и  $\alpha$ -маннозидазы II комплекса Гольджи или мощного ингибитор альфа-маннозидазы I, кифунензина (Ferrara *et al.*, *J Biol Chem* 281:5032-5036, 2006, Ferrara *et al.*, *Biotechnol Bioeng* 93:851-861, 2006; Xhou *et al.*, *Biotechnol Bioeng* 99:652–65, 2008).

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig по настоящему описанию, имеет биантеннарную структуру гликанов с содержанием фукозы от около 1% до около 15%, например около 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1%. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с константной областью Ig или с фрагментом константной области Ig, имеет структуру гликана с содержанием фукозы около 50%, 40%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25% или 20%.

Термин «содержание фукозы» означает количество моносахарида фукозы в пределах сахаридной цепи в положении Asn297. Относительное количество фукозы представляет собой процентное содержание фукозосодержащих структур, относящихся ко всем гликоструктурам. Они могут характеризоваться и количественно определяться

множеством способов, например: 1) при помощи времяпролетной матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (MALDI-TOF) пробы, обработанной N-гликозидазой F (например, комплексные, гибридные, олигоманнозные и высокоманнозные структуры), как описано в международной патентной заявке № WO2008/077546 2); 2) посредством ферментативного высвобождения гликанов Asn<sup>297</sup> с последующей дериватизацией и обнаружением/количественным определением методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) (сверхэффективной жидкостной хроматографии (СВЭЖХ)) с флуоресцентным обнаружением и/или высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС) (сверхэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (СВЭЖХ-МС)); 3) анализом интактного белка нативного или восстановленного мАт с обработкой или без обработки гликанов Asn<sup>297</sup> ферментом Endo S или другим ферментом, который расщепляет связь между первым и вторым моносахаридами GlcNAc и при этом сохраняет соединение фукозы и первого GlcNAc; 4) расщеплением мАт на составляющие его пептиды посредством ферментативного расщепления (например, трипсин или эндопептидаза Lys-C) и последующим разделением, обнаружением и количественным определением посредством ВЭЖХ-МС (СВЭЖХ-МС); 5) отделением олигосахаридов мАт от белка мАт посредством специфического ферментативного дегликозилирования с PNGase F на Asn 297. Высвобожденные таким образом олигосахариды можно метить флуорофором, разделять и идентифицировать различными вспомогательными методами, которые позволяют: точно охарактеризовать структуры гликанов посредством масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI) путем сравнения экспериментальных масс с теоретическими массами, определить степень сиалилирования с помощью ионообменной ВЭЖХ (GlycoSep C), разделить и количественно оценить формы олигосахаридов по критерию гидрофильности с помощью ВЭЖХ с обычной фазой (GlycoSep N) и разделить и количественно оценить формы олигосахаридов с помощью высокоэффективного капиллярного электрофореза с лазер-индуцированной флуоресценцией (HPCE-LIF).

Используемый в настоящем документе термин «низкий уровень фукозы» или «низкое содержание фукозы» относится к антигенсвязывающему домену, который связывается с HLA-G, конъюгированному с константной областью Ig или с фрагментом константной области Ig, с содержанием фукозы около 1–15%.

Используемый в настоящем документе термин «нормальный уровень фукозы» или «нормальное содержание фукозы» относится к антигенсвязывающему домену, который связывается с HLA-G, конъюгированному с константной областью Ig или с фрагментом константной области Ig, с содержанием фукозы около 50%, обычно около 80% или более 85%.

### **Антиидиотипические антитела**

Антиидиотипические антитела представляют собой антитела, которые специфически связываются с антигенсвязывающим доменом, который связывается с HLA-G, по настоящему описанию.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, которое специфически связывается с антигенсвязывающим доменом, который связывается с HLA-G, по настоящему описанию.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, которое специфически связывается с антигенсвязывающим доменом, который связывается с HLA-G, содержащим

VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;

VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;

VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;

VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;

VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;

VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;

VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;

VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;

VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67; или

VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

Антиидиотипическое (Id) антитело является антителом, распознающим антигенные детерминанты (например, паратоп или CDR) антитела. Id-антитело может быть блокирующим или неблокирующим антиген. Антигенблокирующее Id-антитело можно использовать для обнаружения свободного антигенсвязывающего домена в образце (например, антигенсвязывающего домена, который связывается с HLA-G, по настоящему описанию). Неблокирующее Id-антитело можно применять для обнаружения всех антител (свободных, частично связанных с антигеном или

полностью связанных с антигеном) в пробе. Id-антитело можно получать путем иммунизации животного антителом, для которого получают анти-Id-антитело.

Анти-Id-антитело также можно применять в качестве иммуногена для индукции иммунного ответа у еще одного животного, получая так называемое анти-анти-Id-антитело. Анти-анти-Id-антитело может быть эпитопно идентично первичному антигенсвязывающему домену, который индуцировал анти-Id. Таким образом, используя антитела к идиотипическим детерминантам антигенсвязывающего домена, можно идентифицировать другие клоны, экспрессирующие антигенсвязывающие домены идентичной специфичности. Антиидиотипические антитела можно изменять (тем самым продуцируя варианты антиидиотипических антител) и/или дериватизировать любым приемлемым методом, таким как раскрытый в настоящем документе.

### **Иммунконъюгаты**

Антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G по настоящему описанию, представляют собой белки, содержащие антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, или мультиспецифические белки, которые содержат антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G (в совокупности называемые в данном документе белками, связывающимися с HLA-G), могут быть конъюгированы с гетерологичной молекулой.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичная молекула представляет собой обнаруживаемую метку или цитотоксический агент.

В изобретении также предложен антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с обнаруживаемой меткой.

В изобретении также предложен белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с обнаруживаемой меткой.

В изобретении также предложен мультиспецифический белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с обнаруживаемой меткой.

В изобретении также предложен антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с цитотоксическим агентом.

В изобретении также предложен белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с цитотоксическим агентом.

В изобретении также предложен мультиспецифический белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с цитотоксическим агентом.

5 Белки, связывающиеся с HLA-G, по настоящему описанию можно использовать для направления терапевтического средства к клеткам, экспрессирующим HLA-G, таким как клетки рака предстательной железы или рака молочной железы. Альтернативно, клетки, экспрессирующие HLA-G, могут быть мишенями для белка, связывающегося с HLA-G, по настоящему описанию, связанного с терапевтическим средством, предназначенным для модификации клеточной функции после  
10 интернализации.

В некоторых вариантах осуществления обнаруживаемая метка также является цитотоксическим агентом.

Белки, связывающиеся с HLA-G, по настоящему описанию, конъюгированные с обнаруживаемой меткой, можно применять для оценки экспрессии HLA-G в различных  
15 образцах.

Обнаруживаемые метки включают композиции, которые при конъюгировании с белком, связывающимся с HLA-G, по настоящему описанию делают его обнаружимым посредством спектроскопических, фотохимических, биохимических, иммунохимических или химических средств.

20 Примеры выявляемых меток включают радиоактивные изотопы, магнитные гранулы, металлические гранулы, коллоидные частицы, флуоресцентные красители, электроноплотные реагенты, ферменты (например, широко используемые в иммуноферментном анализе (ИФА)), биотин, дигоксигенин, гаптены, люминисцентные молекулы, хемилюминисцентные молекулы, флуорохромы, флуорофоры, гасящие  
25 флуоресценцию агенты, цветные молекулы, радиоактивные изотопы, сцинтиллирующие средства, авидин, стрептавидин, протеин А, протеин G, антитела или их фрагменты, полигистидин, Ni<sup>2+</sup>, Flag-метки, тус-метки, тяжелые металлы, ферменты, щелочную фосфатазу, пероксидазу, люциферазу, доноры/акцепторы электронов, сложные эфиры акридиния и колориметрические субстраты.

30 Выявляемая метка может испускать сигнал спонтанно, например, когда выявляемая метка представляет собой радиоактивный изотоп. В других случаях выявляемая метка испускает сигнал в результате стимуляции внешним полем.

Примерами радиоактивных изотопов могут быть  $\gamma$ -излучающие, Оже-электрон-излучающие,  $\beta$ -излучающие, альфа-излучающие или позитрон-излучающие

радиоактивные изотопы. К примерам радиоактивных изотопов относятся  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{55}\text{Co}$ ,  $^{57}\text{Co}$ ,  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{61}\text{Cu}$ ,  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{72}\text{As}$ ,  $^{75}\text{Br}$ ,  $^{86}\text{Y}$ ,  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{94\text{m}}\text{Tc}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ,  $^{115}\text{In}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{211}\text{At}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{213}\text{Bi}$ ,  $^{223}\text{Ra}$ ,  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{225}\text{Ac}$  и  $^{227}\text{Ac}$ .

К примерам атомов металлов относятся металлы с атомным номером более 20,  
 5 например атомы кальция, атомы скандия, атомы титана, атомы ванадия, атомы хрома, атомы марганца, атомы железа, атомы кобальта, атомы никеля, атомы меди, атомы цинка, атомы галлия, атомы германия, атомы мышьяка, атомы селена, атомы брома, атомы криптона, атомы рублидия, атомы стронция, атомы иттрия, атомы циркония, атомы ниобия, атомы молибдена, атомы технеция, атомы рутения, атомы родия, атомы  
 10 палладия, атомы серебра, атомы кадмия, атомы индия, атомы олова, атомы сурьмы, атомы теллура, атомы йода, атомы ксенона, атомы цезия, атомы бария, атомы лантана, атомы гафния, атомы тантала, атомы вольфрама, атомы рения, атомы осмия, атомы иридия, атомы платины, атомы золота, атомы ртути, атомы таллия, атомы свинца, атомы висмута, атомы франция, атомы радия, атомы актиния, атомы церия, атомы  
 15 празеодима, атомы неодима, атомы прометия, атомы самария, атомы европия, атомы гадолиния, атомы тербия, атомы диспрозия, атомы гольмия, атомы эрбия, атомы туллия, атомы иттербия, атомы лютеция, атомы тория, атомы протактиния, атомы урана, атомы нептуния, атомы плутония, атомы америция, атомы кюрия, атомы берклия, атомы калифорния, атомы эйнштейния, атомы фермия, атомы менделевия,  
 20 атомы нобелия или атомы лоуренсия.

В некоторых вариантах осуществления атомы металла могут представлять собой щелочноземельные металлы с атомным номером более двадцати.

В некоторых вариантах осуществления атомы металлов могут представлять собой лантаниды.

25 В некоторых вариантах осуществления атомы металлов могут представлять собой актиниды.

В некоторых вариантах осуществления атомы металла могут представлять собой переходные металлы.

30 В некоторых вариантах осуществления атомы металла могут представлять собой постпереходные металлы.

В некоторых вариантах осуществления атомы металла могут представлять собой атомы золота, атомы висмута, атомы тантала и атомы гадолиния.

В некоторых вариантах осуществления атомы металла могут представлять собой металлы с атомным номером от 53 (т. е. йод) до 83 (т. е. висмут).

В некоторых вариантах осуществления атомы металла могут представлять собой атомы, приемлемые для магнитно-резонансной томографии.

Атомы металлов могут представлять собой ионы металлов со степенью окисления +1, +2, +3, например  $Ba^{2+}$ ,  $Bi^{3+}$ ,  $Cs^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cr^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Cr^{6+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Co^{3+}$ ,  $Cu^+$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cu^{3+}$ ,  $Ga^{3+}$ ,  $Gd^{3+}$ ,  $Au^+$ ,  $Au^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $F^{3+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Mn^{3+}$ ,  $Mn^{4+}$ ,  $Mn^{7+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Ni^{3+}$ ,  $Ag^+$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Sn^{2+}$ ,  $Sn^{4+}$  и  $Zn^{2+}$ . Атомы металлов могут включать оксид металла, такой как оксид железа, оксид марганца или оксид гадолиния.

Приемлемые красители включают любые коммерчески доступные красители, такие как, например, 5(6)-карбоксифлуоресцеин, малеимид IRDye 680RD или IRDye 800CW, красители на основе комплекса рутений/полипиридил и т. п.

К приемлемым флуорофорам относятся флуоресцеин изотиоцианат (FITC), флуоресцеин тиосемикарбазид, родамин, Texas Red, красители CyDye (например, Cy3, Cy5, Cy5.5), красители Alexa Fluor (например, Alexa488, Alexa555, Alexa594; Alexa647), флуоресцентные красители ближнего ИК-диапазона (NIR) (700-900 нм) и карбоцианиновые и аминостирильные красители.

Антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с обнаруживаемой меткой, может использоваться в качестве агента визуализации.

Белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с обнаруживаемой меткой, может использоваться в качестве агента визуализации.

Мультиспецифический белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгированный с обнаруживаемой меткой, может использоваться в качестве агента визуализации.

В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой химиотерапевтический препарат, лекарственное средство, ингибирующий рост агент, токсин (например, токсин бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения, обладающий ферментативной активностью, или его фрагменты) или радиоактивный изотоп (т. е. радиоактивный конъюгат).

В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой дауномицин, доксорубицин, метотрексат, виндезин, бактериальные токсины, такие как дифтерийный токсин, ригин, гелданамицин, мейтансиноиды или калихеамицин. Цитотоксический агент может индуцировать цитотоксический и цитостатический эффекты посредством механизмов, включающих связывание с тубулином, связывание с ДНК или ингибирование топоизомеразы.

В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой токсин с ферментативной активностью, такой как А-цепь дифтерийного токсина, несвязывающие активные фрагменты дифтерийного токсина, А-цепь экзотоксина (из *Pseudomonas aeruginosa*), А-цепь рицина, А-цепь абрина, А-цепь модецина, альфа-сарцин, белки *Aleurites fordii*, диантиновые белки, белки *Phytolaca americana* (РАPI, РАPII и РАР-S), ингибитор *momordica charantia*, курцин, кротин, ингибитор *sapaonaria officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, эномицин и трикотецены.

В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой радионуклид, такой как  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{131}\text{In}$ ,  $^{90}\text{Y}$  и  $^{186}\text{Re}$ .

В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой долостатины или пептидные аналоги и производные долостатина, ауристин или монометилауристин фенилаланин. Примеры молекул описаны в патентах США № 5635483 и 5780588. Показано, что долостатины и ауристин блокируют динамику микротрубочек, гидролиз ГТФ и деление ядра и клетки (Woyke et al (2001) Antimicrob Agents and Chemother. 45(12):3580–3584) и обладают противораковой и противогрибковой активностью. Функциональная группа лекарственного препарата долостатина или ауристатина может быть присоединена к антителу по изобретению, посредством N (амино) конца или C (карбоксильного) конца функциональной группы пептидного лекарственного средства (WO02/088172) или посредством любого цистеина, искусственно внедренного в антитело.

Белки, связывающиеся с HLA-G, по настоящему описанию могут быть конъюгированы с обнаруживаемой меткой с использованием известных способов.

В некоторых вариантах осуществления выявляемая метка находится в комплексе с хелатирующим агентом.

В некоторых вариантах осуществления обнаруживаемая метка конъюгирована с белками, связывающимися с HLA-G, по настоящему описанию посредством линкера.

Обнаруживаемая метка или цитотоксический фрагмент могут быть связаны непосредственно или опосредованно с белками, связывающимися с HLA-G, по настоящему описанию с использованием известных способов. Подходящие линкеры известны в данной области техники и включают, например, простетические группы, нефенольные линкеры (производные N-сукцинимидилбензоатов; додекарборат), хелатирующие группы как макролитических, так и ациклических хелаторов, например производные 1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1,4,7,10,-тетрауксусной кислоты (DOTA), производные диэтилентриаминпентауксусной кислоты (ДТРА), производные S-2-(4-

изотиоцианатобензил)-1,4,7-триазаиклононан-1,4,7-триуксусной кислоты (NOTA) и производные 1,4,8,11-тетраазаиклододекан-1,4,8,11-тетрауксусной кислоты (TETA), N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитиол) пропионат (SPDP), имиотиолан (ИТ), дифункциональные производные сложных имидоэфиров (такие как диметиладипимидат HCl), активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидил суберат), альдегиды (такие как глутаральдегид), бис-азидные соединения (такие как бис-(п-азидобензоил)гександиамин), производные бис-диазония (такие как бис-(п-диазонийбензоил)этилендиамин), диизоцианаты (такие как толуол 2,6-диизоцианат) и бис-активные фтористые соединения (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол) и другие хелатирующие группы. Подходящие пептидные линкеры хорошо известны.

В некоторых вариантах осуществления белки, связывающиеся с HLA-G, по настоящему описанию удаляют из крови посредством почечного клиренса.

### **Наборы**

В изобретении также предложен набор, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G.

В изобретении также предложен набор, включающий белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G.

В изобретении также предложен набор, включающий мультиспецифический белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G.

Набор можно применять для терапевтических областей применения и в виде диагностических наборов.

Набор можно применять для обнаружения наличия HLA-G в образце.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит белок, связывающийся с HLA-G, по настоящему описанию и реагенты для обнаружения белка, связывающегося с HLA-G. Набор может содержать один или более из других элементов: инструкцию по применению; другие реагенты, например метку, терапевтический агент или агент, используемый для хелатирования или иного сочетания, антитело для мечения, или терапевтический агент, или радиозащитную композицию; устройства или другие материалы для подготовки антитела к введению; фармацевтически приемлемые носители и устройства или другие материалы для введения пациенту.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, находящийся в контейнере, и инструкции по применению набора.

В некоторых вариантах осуществления набор включает белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, находящийся в контейнере, и инструкции по применению набора.

5 В некоторых вариантах осуществления набор включает мультиспецифический белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, находящийся в контейнере, и инструкции по применению набора.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, находящийся в наборе, имеет метку.

10 В некоторых вариантах осуществления белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, находящийся в наборе, имеет метку.

В некоторых вариантах осуществления мультиспецифический белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, находящийся в наборе, имеет метку.

15 В некоторых вариантах осуществления набор содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержащий

VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;

VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;

VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;

20 VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;

VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;

VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;

VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;

VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;

25 VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67; или

VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержащий SEQ ID NO: 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268 или 269.

30

### **Способы обнаружения HLA-G**

В изобретении также предложен способ обнаружения HLA-G в образце, включающий в себя получение образца, приведение в контакт образца с

антигенсвязывающим доменом, который связывается с HLA-G, по настоящему описанию, и обнаружение связанного с HLA-G в пробе.

В некоторых вариантах осуществления пробу можно получать из мочи, крови, сыворотки крови, плазмы крови, слюны, асцитной жидкости, циркулирующих клеток, синовиальной жидкости, циркулирующих клеток, клеток, не связанных с тканями (т. е. свободных клеток), тканей (например, резецированной хирургическим путем ткани, материалов биопсии, включая полученные с помощью тонкоигольной аспирационной биопсии), гистологических препаратов и т. п.

Антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, по настоящему описанию, можно обнаружить с использованием известных способов. Примеры способов включают в себя прямое мечение антител с использованием флуоресцентных или хемилюминесцентных меток или радиоактивных меток или присоединение к антителам по изобретению легко обнаруживаемой функциональной группы, такой как биотин, ферменты или эпитопные метки. Примерами меток и функциональных групп являются рутений,  $^{111}\text{In}$ -DOTA,  $^{111}\text{In}$ -диэтилентриаминпентауксусная кислота (ДТРА), пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза и бета-галактозидаза, полигистидин (HIS-метка), акридиновые красители, цианиновые красители, флуороновые красители, оксазиновые красители, фенантридиновые красители, родаминовые красители и красители Alexafluor®.

Антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, по настоящему описанию, можно использовать в ряде анализов для обнаружения HLA-G в пробе. Примерами анализов являются анализ методом вестерн-блоттинга, радиоиммунологический анализ, поверхностный плазмонный резонанс, иммунопреципитация, равновесный диализ, иммунодиффузия, электрохемилюминесцентный (ECL) иммуноанализ, иммуногистохимический анализ, сортировка флуоресцентно-активированных клеток (FACS) или твердофазный ИФА.

### **Полинуклеотиды, векторы, клетки-хозяева**

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий любой белок, связывающийся с HLA-G, по настоящему описанию. Связывающийся с HLA-G белок включает антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, белки, содержащие антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, мультиспецифические белки, которые содержат антигенсвязывающие домены, которые связываются с HLA-G, по настоящему описанию.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий любой белок, связывающийся с HLA-G, или его фрагменты.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VH  
SEQ ID NO: 50.

5 В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL  
SEQ ID NO: 51.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VH  
SEQ ID NO: 52.

10 В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL  
SEQ ID NO: 53.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VH  
SEQ ID NO: 54.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL  
SEQ ID NO: 55.

15 В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL  
SEQ ID NO: 56.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL  
SEQ ID NO: 57.

20 В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL  
SEQ ID NO: 58.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL  
SEQ ID NO: 59.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL  
SEQ ID NO: 60.

25 В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL  
SEQ ID NO: 61.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL  
SEQ ID NO: 62.

30 В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL  
SEQ ID NO: 63.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL  
SEQ ID NO: 64.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL  
SEQ ID NO: 65.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL SEQ ID NO: 66.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL SEQ ID NO: 67.

5 В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL SEQ ID NO: 68.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL SEQ ID NO: 69.

10 В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.

15 В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68 и VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;  
VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;  
VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;  
20 VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;  
VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;  
25 VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67; или  
VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий полипептид SEQ ID NO: SEQ ID NO: 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268 или 269.

30 В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий полипептид SEQ ID NO: 248.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий полипептид SEQ ID NO: 249.



В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий полипептид SEQ ID NO: 267.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий полипептид SEQ ID NO: 268.

5 В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий полипептид SEQ ID NO: 269.

В некоторых вариантах осуществления изобретения также предложена выделенная или очищенная нуклеиновая кислота, содержащая полинуклеотид, который комплементарен полинуклеотидам, кодирующим HLA-G-связывающие белки по  
10 настоящему описанию, или полинуклеотидам, которые гибридизуются в жестких условиях с полинуклеотидами, кодирующими HLA-G-связывающие белки по настоящему описанию.

Полинуклеотиды, которые гибридизуются в жестких условиях, могут гибридизоваться в условиях высокой жесткости. Под «условиями высокой  
15 жесткости» понимается, что полинуклеотид специфически гибридизуется с целевой последовательностью (нуклеотидной последовательностью любой из нуклеиновых кислот, описанных в данном документе) в степени, обнаружимой сильнее, чем неспецифическая гибридизация. Условия высокой жесткости включают условия, которые позволяют различить полинуклеотид с точно комплементарной  
20 последовательностью или полинуклеотид, содержащий только несколько разбросанных несовпадений из случайной последовательности, которая имеет несколько небольших областей (например, 3–12 оснований), которые соответствуют нуклеотидной последовательности. Такие небольшие области комплементарности легче расплавляются, чем полноразмерный комплемент из 14–17 или более оснований, и  
25 гибридизация с высокой жесткостью делает их легко различимыми. Условия относительно высокой жесткости будут включать, например, условия с низким содержанием соли и/или высокой температурой, такие как обеспечиваемые около 0,02–0,1 М NaCl или его эквивалентом, при температурах примерно 50–70 °C. Такие условия высокой строгости допускают незначительное, если таковое имеется, несоответствие  
30 между последовательностью нуклеотидов и матрицей или цепью-мишенью. Как правило, считается, что условия можно сделать более жесткими путем добавления возрастающих количеств формамида.

Полинуклеотидные последовательности по изобретению могут быть функционально связаны с одним или более регуляторными элементами, такими как

промотор или энхансер, которые позволяют экспрессировать нуклеотидную последовательность в предполагаемой клетке-хозяине. Полинуклеотид может представлять собой кДНК. Промотор может представлять собой сильный, слабый, специфичный к ткани, индуцибельный или специфичный к развитию промотор.

5 Типичные промоторы, которые можно использовать, представляют собой гипоксантин-фосфорибозилтрансферазу (HPRT), аденозиндеаминазу, пируваткиназу, бета-актин, человеческий миозин, гемоглобин человека, креатин мышц человека и другие. Кроме того, многие вирусные промоторы функционируют конститутивно в эукариотических клетках и являются приемлемыми для применения в описанных вариантах

10 осуществления. Такие вирусные промоторы включают в себя немедленно-ранний промотор цитомегаловируса (CMV), ранний и поздний промоторы SV40, промотор вируса опухоли молочной железы мышей (MMTV), длинные концевые повторы (LTR) вируса лейкоза Малони, вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), вируса Эпштейна — Барр (EBV), вируса саркомы Рауса (RSV) и других ретровирусов и промотор

15 тимидинкиназы вируса простого герпеса. Также можно использовать индуцибельные промоторы, такие как промотор металлотioneина, индуцируемый тетрациклином промотор, индуцируемый доксициклином промотор, промоторы, которые содержат один или более интерферон-стимулируемых реагирующих элементов (ISRE), такие как протеинкиназа R 2',5'-олигоденилатсинтетазы, гены Mx, ADAR1 и т. п.

20 В настоящем изобретении также предложен вектор, содержащий полинуклеотид настоящего изобретения. В настоящем изобретении также предложен вектор экспрессии, содержащий полинуклеотид настоящего изобретения. Такие векторы могут представлять собой плазмидные векторы, вирусные векторы, векторы для экспрессии бакуловирусов, векторы на основе транспозонов или любые другие векторы,

25 приемлемые для введения синтетического полинуклеотида настоящего изобретения в данный организм или в данное генетическое окружение любым способом. Полинуклеотиды, кодирующие HLA-G-связывающие белки по настоящему описанию, могут быть функционально связаны с контрольными последовательностями в экспрессионном (-ых) векторе (-ах), который (-ые) обеспечивает (-ют) экспрессию

30 HLA-G-связывающих белков. К таким регуляторным элементам могут относиться промотор транскрипции, последовательности, кодирующие приемлемые участки связывания мРНК с рибосомой, и последовательности, контролирующие терминацию транскрипции и трансляции. Экспрессионные векторы также могут включать в себя один или более нетранскрибируемых элементов, например точку начала репликации,

приемлемый промотор и энхансер, связанные с экспрессируемым геном, другие 5' или 3' фланкирующие нетранскрибируемые последовательности, 5' или 3' нетранслируемые последовательности (например, необходимые участки связывания с рибосомой), сайт полиаденилирования, донорный и акцепторный сайты сплайсинга или последовательности терминации транскрипции. Кроме того, может быть встроена точка начала репликации, обеспечивающая способность к репликации в клетке-хозяине.

Экспрессионные векторы могут содержать межнуклеотидные связи природного происхождения или неприродного происхождения или оба типа связей. Неприродные или измененные нуклеотиды или межнуклеотидные связи не препятствуют транскрипции или репликации вектора.

После введения вектора в соответствующего хозяина проводят инкубацию хозяина в условиях, приемлемых для высокоуровневой экспрессии HLA-G-связывающих белков по настоящему описанию, кодируемых введенными полинуклеотидами. Последовательности контроля транскрипции и трансляции в экспрессионных векторах, предназначенных для трансформации клеток позвоночных, могут быть получены из вирусных источников. Примеры векторов, которые можно сконструировать, описаны в публикации Okayama and Berg, *3 Mol. Cell. Biol.* 280 (1983).

Векторы в соответствии с настоящим описанием могут также содержать один или более участков внутренней посадки рибосомы (IRES). Включение последовательности IRES в слитые векторы может быть полезно для усиления экспрессии некоторых белков. В некоторых вариантах осуществления векторная система может включать в себя один или более участков полиаденилирования (например, SV40), которые могут находиться выше или ниже любой из вышеупомянутых последовательностей нуклеиновых кислот. Компоненты вектора могут быть сшиты друг с другом или расположены так, чтобы обеспечить оптимальное разнесение в пространстве для экспрессии генных продуктов (т. е. путем введения «спейсерных» нуклеотидов между открытыми рамками считывания (ORF)), или расположены другим способом. Регуляторные элементы, такие как мотив IRES, также могут быть расположены с возможностью обеспечения оптимального разнесения в пространстве для экспрессии.

Векторы в соответствии с настоящим описанием могут быть кольцевым или линейными. Они могут быть получены с возможностью наличия системы репликации, функционирующей в прокариотической или эукариотической клетке-хозяине. Системы

репликации могут быть получены, например, из ColE1, SV40, 2μ плазмиды, λ, вируса бычьей папилломы и т. п.

Рекомбинантные векторы экспрессии могут быть разработаны либо для транзientной экспрессии, либо для стабильной экспрессии, либо для обоих типов.

5 Кроме того, рекомбинантные векторы экспрессии могут быть получены для конститутивной экспрессии или для индуцируемой экспрессии.

Дополнительно могут быть созданы рекомбинантные векторы экспрессии, включающие суицидальный ген. Используемый в данном документе термин «суицидальный ген» относится к гену, который заставляет клетку, экспрессирующую суицидальный ген, погибать. Суицидальный ген может быть геном, который придает чувствительность к агенту, например лекарственному средству, клетке, в которой экспрессируется ген, и заставляет клетку погибать, когда клетку приводят в контакт с агентом или она подвергается его воздействию. Суицидальные гены известны в данной области и включают, например, ген тимидинкиназы (ТК) вируса простого герпеса (HSV), цитозиндезаминазу, пурин-нуклеозидфосфорилазу и нитроредуктазу.

10

15

Векторы могут также содержать селективные маркеры, хорошо известные в данной области. Селективные маркеры включают в себя маркер положительной и отрицательной селекции. Маркерные гены включают гены резистентности к биоцидам, например гены резистентности к антибиотикам, тяжелым металлам и т. д., комплементации в ауксотрофном хозяине для обеспечения прототрофности и т. п. Примеры маркерных генов включают в себя гены резистентности к антибиотикам (например, ген резистентности к неомицину, ген резистентности к гигромицину, ген резистентности к канамицину, ген резистентности к тетрациклину, ген резистентности к пенициллину, ген резистентности к гистидинолу, ген резистентности к гистидинолу х), гены глутамин синтазы, HSV-ТК, производные HSV-ТК для ганцикловирной селекции или ген бактериальной пурииннуклеозидфосфорилазы для селекции по 6-метилпурину (Gadi et al., *7 Gene Ther.* 1738-1743 (2000)). Нуклеотидная последовательность, кодирующая селективный маркер или сайт клонирования, может располагаться выше или ниже нуклеотидной последовательности, кодирующей интересующий полипептид или сайт клонирования.

20

25

30

Примерами векторов, которые могут применяться, являются бактериальные: pBs, phagescript, PsiX174, pBluescript SK, pBs KS, pNH8a, pNH16a, pNH18a, pNH46a (Stratagene, Ла-Холья, г. Сан-Диего, штат Калифорния, США); pTrc99A, pKK223-3, pKK233-3, pDR540 и pRIT5 (Pharmacia, г. Уппсала, Швеция). Эукариотические:

pWLneo, pSV2cat, pOG44, PXR1, pSG (Stratagene), pSVK3, pBPV, pMSG и pSVL (Pharmacia), pEE6.4 (Lonza) и pEE12.4 (Lonza). Дополнительные векторы включают в себя серии pUC (Fermentas Life Sciences, Глен Берни, штат Мэриленд, США), серии pBluescript (Stratagene, г. Ла-Холья, штат Калифорния, США), серии pET (Novagen, г. Мэдисон, штат Висконсин, США), серии pGEX (Pharmacia Biotech, г. Уппсала, Швеция) и серии pEX (Clontech, г. Пало-Альто, штат Калифорния, США). Можно использовать векторы бактериофагов, такие как  $\lambda$ GT10,  $\lambda$ GT11,  $\lambda$ EMBL4 и  $\lambda$ NM1149,  $\lambda$ ZapII (Stratagene). Примеры векторов экспрессии растений включают pBI01, pBI01.2, pBI121, pBI101.3 и pBIN19 (Clontech). Примеры векторов экспрессии на животных включают pEUK-CI, pMAM и pMAMneo (Clontech). Экспрессионный вектор может быть вирусным вектором, например, ретровирусным вектором, например, гамма-ретровирусным вектором.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 50.

15 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 52.

20 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 54.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 55.

25 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 56.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 57.

30 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 58.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 60.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 62.

5 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 63.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 64.

10 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 66.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 67.

15 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 68.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 69.

20 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VL SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.

25 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий VH SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68 и VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий

VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;

VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;

30 VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;

VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;

VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;

VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;

VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;

VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;

VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67; или

VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

5 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий SEQ ID NO: SEQ ID NO: 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268 или 269.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 248.

10 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 249.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 250.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 251.

15 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 252.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 253.

20 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 254.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 255.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 256.

25 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 257.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 258.

30 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 259.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 260.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 261.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 262.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 263.

5 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 264.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 265.

10 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 266.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 267.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 268.

15 В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид с SEQ ID NO: 269.

В изобретении также предложена клетка-хозяин, содержащая один или более векторов по изобретению. Термин «клетка-хозяин» относится к клетке, в которую был встроен вектор. Следует понимать, что термин «клетка-хозяин» служит для обозначения не только конкретной заявленной клетки, но и потомства такой клетки, а также стабильной клеточной линии, полученной из конкретной заявленной клетки. Так как в последующих поколениях могут возникать некоторые модификации вследствие либо мутации, либо воздействий среды, такое потомство может быть неидентичным исходной клетке, но оно также может быть охвачено термином «клетка-хозяин», используемым в настоящем документе. Такими клетками-хозяевами могут быть эукариотические, прокариотические, растительные клетки или клетки архей. Кишечная палочка (*Escherichia coli*), бациллы, такие как сенная палочка (*Bacillus subtilis*), и другие энтеробактерии, такие как сальмонеллы, серратия и различные виды псевдомонад, являются примерами прокариотических клеток-хозяев. Для экспрессии также можно использовать другие микроорганизмы, такие как дрожжи. Сахаромицеты (например, *S. cerevisiae*) и пихии являются примерами приемлемых дрожжевых клеток-хозяев. Примерами эукариотических клеток могут быть клетки млекопитающих, насекомых, птиц или другие клетки животного происхождения. Эукариотические клетки млекопитающих включают иммортализованные клеточные линии, такие как

20

25

30

гибридомы или клеточные линии миеломы, например мышинные клеточные линии SP2/0 (Американская коллекция типовых культур (АТСС), г. Манассас, штат Вирджиния, США, CRL-1581), NS0 (Европейская коллекция клеточных культур (ЕАССС), г. Солсбери, Уилтшир, Великобритания, ЕАССС № 85110503), FO (АТСС CRL-1646) и Ag653 (АТСС CRL-1580). Примером клеточной линии миеломы человека является U266 (АТСС CRL-TIB-196). Другие используемые клеточные линии включают линии, полученные из клеток яичника китайского хомячка (СНО), например СНО-K1SV (Lonza Biologics, г. Уолкерсвилл, штат Мэриленд, США), СНО-K1 (АТСС CRL-61) или DG44.

10 В изобретении также предложен способ получения HLA-G-связывающего белка по настоящему описанию, включающий культивирование клетки-хозяина по настоящему описанию в условиях экспрессии К2-связывающего белка и выделение HLA-G-связывающего белка, продуцируемого клеткой-хозяином. Известны способы получения белков и их очистки. После синтеза (химического или рекомбинантного) HLA-G-связывающие белки можно очищать в соответствии со стандартными 15 процедурами, включающими в себя осаждение сульфатом аммония, применение аффинных колонок, колоночную хроматографию, высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), гель-электрофорез и т. п. (см. по существу Scopes, Protein Purification (Springer- Verlag, N.Y., (1982)). Заявленный белок может быть по существу чистым, например чистым на по меньшей мере от около 80% до 85%, чистым на по 20 меньшей мере от около 85% до 90%, чистым на по меньшей мере от около 90% до 95%, чистым на по меньшей мере от около 98% до 99% или более, например не содержащим загрязнителей, таких как клеточный дебрис, макромолекулы и т. д., отличных от заявленного антитела.

25 Полинуклеотиды, кодирующие HLA-G-связывающие белки по настоящему описанию, могут быть включены в векторы с применением стандартных способов молекулярной биологии. Трансформацию клетки-хозяина, культивирование, экспрессию и очистку антитела выполняют с применением хорошо известных способов.

30 Для получения полинуклеотидов по настоящему изобретению можно использовать модифицированные нуклеотиды. Примеры модифицированных нуклеотидов включают 5-фторурацил, 5-бром урацил, 5-хлорурацил, 5-йодурацил, гипоксантин, ксантин, 4-ацетилцитозин, 5-(карбоксихидроксиметил) урацил, карбоксиметиламинометил-2-тиоурдин, 5-карбоксиметиламинометилурацил,

дигидроурацил, N<sup>6</sup>-замещенный аденин, 7-метилгуанин, 5-метиламинометилурацил, 5-метоксиаминометил-2-тиоурацил, бета-D-маннозилквеуозин, 5''-метоксикарбоксиметилурацил, 5-метоксиурацил, 2-метилтио-N<sup>6</sup>-изопентениладенин, урацил-5-оксиуксусную кислоту (v), вибутоксизин, псевдоурацил, квеуозин, бета-D-галактозилквеуозин, инозин, N<sup>6</sup>-изопентениладенин, 1-метилгуанин, 1-метинозин, 2,2-диметилгуанин, 2-метиладенин, 2-метилгуанин, 3-метилцитозин, 5-метилцитозин, 2-тиоцитозин, 5-метил-2-тиоурацил, 2-тиоурацил, 4-тиоурацил, 5-метилурацил, метиловый эфир урацил-5-оксиуксусной кислоты, 3-(3-амино-3-N-2-карбоксыпропил) урацил и 2,6-диаминопурин.

10

#### **Фармацевтические композиции / введение**

В настоящем изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая HLA-G-связывающий белок по настоящему описанию и фармацевтически приемлемый носитель.

15 В настоящем изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, по настоящему описанию и фармацевтически приемлемый носитель.

В настоящем изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая белок, включающий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, по настоящему описанию и фармацевтически приемлемый носитель.

20 В настоящем изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая мультиспецифический белок, включающий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, по настоящему описанию и фармацевтически приемлемый носитель.

25 В настоящем изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая мультиспецифический белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и антигенсвязывающий домен, который связывает опухолевый антиген, отличный от HLA-G, и фармацевтически приемлемый носитель.

30 Для терапевтического применения возможно получение HLA-G-связывающего белка по настоящему описанию в виде фармацевтических композиций, содержащих эффективное количество антитела в качестве активного ингредиента в фармацевтически приемлемом носителе. Эти растворы стерильны и по существу не содержат твердых частиц. Стерилизацию проводят с использованием стандартных, хорошо известных способов стерилизации (например, фильтрования). Композиции

могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, необходимые для приближения к физиологическим условиям, такие как регуляторы рН и буферные агенты, стабилизирующие, загущающие, смазывающие и окрашивающие агенты и т. д.

5 Термин «фармацевтически приемлемый», используемый в данном документе в отношении фармацевтических композиций, обозначает одобренный регуляторным ведомством Федерального правительства или правительством штата, или приведенный в Фармакопее США или другой общепризнанной фармакопее для применения у животных и/или людей.

10

## **СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ**

В описании также предложен биспецифический или мультиспецифический белок, содержащий первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с HLA-G, и второй антигенсвязывающий домен, который специфически связывается со вторым антигеном, по настоящему изобретению, для применения в терапии.

В описании также предложен биспецифический или мультиспецифический белок, содержащий первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с HLA-G, и второй антигенсвязывающий домен, который специфически связывается со вторым антигеном, по настоящему изобретению, для применения при лечении клеточного пролиферативного расстройства.

В описании также предложен биспецифический или мультиспецифический белок, содержащий первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с HLA-G, и второй антигенсвязывающий домен, который специфически связывается со вторым антигеном, по настоящему изобретению, для применения при лечении рака.

В описании также предложен биспецифический или мультиспецифический белок, содержащий первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с HLA-G, и второй антигенсвязывающий домен, который специфически связывается со вторым антигеном, по настоящему изобретению, для применения при производстве лекарственного средства для терапии.

В описании также предложен биспецифический или мультиспецифический белок, содержащий первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с HLA-G, и второй антигенсвязывающий домен, который специфически

связывается со вторым антигеном, по настоящему изобретению, для применения при производстве лекарственного средства для лечения клеточного пролиферативного расстройства.

5 В описании также предложен биспецифический или мультиспецифический белок, содержащий первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с HLA-G, и второй антигенсвязывающий домен, который специфически связывается со вторым антигеном, по настоящему изобретению, для применения при производстве лекарственного средства для лечения рака.

10 В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества мультиспецифического белка, содержащего антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, для лечения рака, причем антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит

VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;  
15 VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;  
VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;  
VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;  
VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;  
VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;  
20 VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;  
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;  
VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67; или  
VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.

25 В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, включающий введение терапевтически эффективного количества мультиспецифического белка, содержащего антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, субъекту для лечения рака, причем антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268 или 269.

30 Еще одним аспектом изобретения является способ лечения клеточного пролиферативного расстройства у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества биспецифического или мультиспецифического белка, содержащего первый антигенсвязывающий домен,

который специфически связывается с HLA-G, и второй антигенсвязывающий домен, который специфически связывается со вторым антигеном, по настоящему описанию. В других вариантах осуществления субъекту вводят биспецифический или мультиспецифический белок, содержащий первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с HLA-G, и второй антигенсвязывающий домен, который специфически связывается со вторым антигеном, по настоящему описанию.

В любом из предшествующих применений или способов клеточное пролиферативное расстройство представляет собой злокачественное новообразование. В других вариантах осуществления рак выбирают из группы, состоящей из рака легкого, рака поджелудочной железы, рака почки, рака головы и шеи, рака яичника, рака пищевода, рака молочной железы, рака матки, меланомы, нейробластомы, глиобластомы, колоректального рака, рака желудка, рака парашитовидной железы, рака мочевого пузыря, рака печени, гепатоцеллюлярной карциномы, плевральной мезотелиомы, рака предстательной железы, холангиокарциномы, рака щитовидной железы, эмбриональной карциномы, семиномы, увеальной меланомы, феохромоцитомы, тератомы, тимомы, адренокортикальной карциномы, астроцитомы, синовиальной саркомы, миелодиспластического синдрома, острого миелоидного лейкоза (AML), лимфомы Ходжкина, множественной миеломы (ММ), неходжкинской лимфомы и В-клеточного хронического лимфоидного лейкоза.

В других вариантах осуществления рак представляет собой рак легкого. В других варианте осуществления рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), мелкоклеточный рак легкого (SCLC) или аденокарциному легкого. В других вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В других вариантах осуществления рак представляет собой аденокарциному, например метастатическую аденокарциному (например, аденокарциному легкого, аденокарциному желудка или аденокарциному поджелудочной железы).

В других вариантах осуществления рак почки представляет собой светлоклеточную почечную карциному (CCRCC).

В других вариантах осуществления рак почки представляет собой папиллярный тип.

В других вариантах осуществления рак яичника представляет собой серозный рак яичника, брюшины или фаллопиевой трубы высокой степени.

В других вариантах осуществления рак яичника имеет повышенный маркер крови (например, СА 125) или связанную с раком текучую среду, которую можно контролировать.

5 В других вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой трижды негативный рак молочной железы (TNBC).

В другом аспекте изобретение относится к набору, содержащему: (а) композицию, содержащую любой из указанных выше биспецифических или мультиспецифических белков, содержащих первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с HLA-G, и второй антигенсвязывающий домен, который специфически связывается со вторым антигеном, по настоящему описанию, и  
10 (b) листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по введению композиции субъекту для лечения или задержки прогрессирования клеточного пролиферативного расстройства.

В любом из предшествующих применений или способов испытуемый может  
15 представлять собой человека.

## **ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ**

В данном изобретении предложены следующие не имеющие ограничительного  
20 характера варианты осуществления.

- 1) Выделенный белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывает человеческий лейкоцитарный антиген G (HLA-G), причем антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит:
  - а) определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HCDR) 1, HCDR2 и  
25 HCDR3 вариабельной области тяжелой цепи (VH) с последовательностью SEQ ID NO: 50 и определяющую комплементарность область легкой цепи (LCDR) 1, LCDR2 и LCDR3 вариабельной области легкой цепи (VL) с последовательностью SEQ ID NO: 51; или
  - б) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 52 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL  
30 с SEQ ID NO: 53; или
  - в) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 54 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 55; или
  - д) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 56 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 57; или

- e) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 58 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 59; или
- f) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 60 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 61; или
- 5 g) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 62 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 63; или
- h) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 64 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 65; или
- i) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 66 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 67; или
- 10 j) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 68 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 69.
- 2) Выделенный белок по варианту осуществления 1, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3
- 15 a) SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно;
- b) SEQ ID NO: 73, 71, 74, 91, 89 и 92 соответственно;
- c) SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно;
- d) SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно;
- e) SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно;
- 20 f) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно;
- g) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно;
- h) SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно; или
- i) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.
- 3) Выделенный белок по варианту осуществления 1 или 2, в котором
- 25 антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой scFv, (scFv)<sub>2</sub>, Fv, Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fd, dAb или VHH.
- 4) Выделенный белок по варианту осуществления 3, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой Fab.
- 5) Выделенный белок по варианту осуществления 3, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой scFv.
- 30 6) Выделенный белок по варианту осуществления 5, в котором scFv содержит, от N-до C-конца, VH, первый линкер (L1) и VL (VH-L1-VL) или VL, L1 и VH (VL-L1-VH).
- 7) Выделенный белок по варианту осуществления 6, в котором L1 содержит:

- a) около 5–50 аминокислот;
  - b) около 5–40 аминокислот;
  - c) около 10–30 аминокислот; или
  - d) около 10–20 аминокислот.
- 5) 8) Выделенный белок по варианту осуществления 6, в котором L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.
- 9) Выделенный белок по варианту осуществления 8, в котором L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8.
- 10) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 1–9, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68 и VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.
- 15) 11) Выделенный белок по варианту осуществления 10, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит:
- a) VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;
  - b) VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;
  - c) VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;
  - 20) d) VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;
  - e) VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;
  - f) VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;
  - g) VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;
  - h) VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;
  - 25) i) VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67; или
  - j) VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69;
- 12) Выделенный белок по любому из варианту осуществления 1–11, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268 или 269.
- 30) 13) Выделенный белок по любому из варианту осуществления 1–12, в котором белок конъюгирован с фрагментом, продлевающим период полужизни.
- 14) Выделенный белок по варианту осуществления 13, в котором фрагмент, продлевающий период полужизни, представляет собой иммуноглобулин (Ig),

фрагмент Ig, константную область Ig, фрагмент константной области Ig, Fc-область, трансферрин, альбумин, альбумин-связывающий домен или полиэтиленгликоль.

- 5 15) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 1–14, в котором выделенный белок представляет собой моноспецифический белок.
- 16) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 1–14, в котором выделенный белок представляет собой мультиспецифический белок.
- 17) Выделенный белок по варианту осуществления 16, в котором мультиспецифический белок представляет собой биспецифический белок.
- 10 18) Выделенный белок по варианту осуществления 16, в котором мультиспецифический белок представляет собой триспецифический белок.
- 19) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 1–18, дополнительно содержащий константную область иммуноглобулина (Ig) или фрагмент его константной области Ig.
- 15 20) Выделенный белок по варианту осуществления 19, в котором фрагмент константной области Ig содержит Fc-область.
- 21) Выделенный белок по варианту осуществления 19, в котором фрагмент константной области Ig содержит домен CH2.
- 22) Выделенный белок по варианту осуществления 19, в котором фрагмент константной области Ig содержит домен CH3.
- 20 23) Выделенный белок по варианту осуществления 19, в котором фрагмент константной области Ig содержит домен CH2 и домен CH3.
- 24) Выделенный белок по варианту осуществления 19, в котором фрагмент константной области Ig содержит по меньшей мере часть шарнирной области, домен CH2 и домен CH3.
- 25 25) Выделенный белок по варианту осуществления 19, в котором фрагмент константной области Ig содержит шарнирную область, домен CH2 и домен CH3.
- 26) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 19–25, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с N-концом константной области Ig или фрагмента константной области Ig.
- 30 27) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 19–25, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с C-концом константной области Ig или фрагмента константной области Ig.

- 28) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 19–27, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig посредством второго линкера (L2).
- 5 29) Выделенный белок по варианту осуществления 41, в котором L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.
- 10 30) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 16–29, в котором мультиспецифический белок содержит антигенсвязывающий домен, который связывает антиген на лимфоците.
- 31) Выделенный белок по варианту осуществления 30, в котором лимфоцит представляет собой Т-клетку.
- 15 32) Выделенный белок по варианту осуществления 30, в котором Т-клетка представляет собой CD8<sup>+</sup> Т-клетку.
- 33) Выделенный белок по варианту осуществления 30, в котором лимфоцит представляет собой клетку натурального киллера (NK).
- 20 34) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 16–33, в котором мультиспецифический белок содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с CD3, CD3 эпсилон (CD3ε), CD8, KI2L4, NKG2E, NKG2D, NKG2F, BTNL3, CD186, BTNL8, PD-1, CD195 или NKG2C.
- 35) Выделенный белок по варианту осуществления 34, в котором мультиспецифический белок содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с CD3ε.
- 25 36) Выделенный белок по варианту осуществления 48, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с CD3ε, содержит:
- 30 а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1) с SEQ ID NO: 361, HCDR2 с SEQ ID NO: 362, HCDR3 с SEQ ID NO: 363, определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (LCDR1) с SEQ ID NO: 367, LCDR2 с SEQ ID NO: 368 и LCDR3 с SEQ ID NO: 369;
- б) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 340;
- в) HCDR1 с SEQ ID NO: 361, HCDR2 с SEQ ID NO: 362, HCDR3 с SEQ ID NO: 363, LCDR1 с SEQ ID NO: 367, LCDR2 с SEQ ID NO: 368 и LCDR3 с SEQ ID NO: 370;

- d) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 341;
- e) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 342;
- f) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 343;
- g) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 344;
- 5 h) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 345;
- i) HCDR1 с SEQ ID NO: 364, HCDR2 с SEQ ID NO: 365, HCDR3 с SEQ ID NO: 366, LCDR1 с SEQ ID NO: 371, LCDR2 с SEQ ID NO: 372 и LCDR3 с SEQ ID NO: 373;
- j) VH с SEQ ID NO: 346 и VL с SEQ ID NO: 347; или
- 10 k) VH с SEQ ID NO: 348 и VL с SEQ ID NO: 349.
- 37) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 19–36, в котором константная область Ig или фрагмент константной области Ig представляет собой изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.
- 38) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 19–37, в котором константная область Ig или фрагмент константной области Ig содержит по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к ослаблению связывания белка с Fcγ-рецептором (FcγR).
- 15 39) Выделенный белок по варианту осуществления 38, в котором по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к ослаблению связывания белка с FcγR, выбирают из группы, состоящей из L235A/ D265S, F234A/L235A, L234A/L235A, L234A/L235A/D265S, V234A/G237A/ P238S/H268A/V309L/A330S/P331S, F234A/L235A, S228P/F234A/ L235A, N297A, V234A/G237A, K214T/E233P/ L234V/L235A/G236-делеция/A327G/P331A/D365E/L358M, H268Q/V309L/A330S/P331S, S267E/L328F, L234F/L235E/D265A,
- 20 L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S, S228P/F234A/L235A/G236-делеция/G237A/P238S, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.
- 40) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 19–37, в котором константная область Ig или фрагмент константной области Ig содержит по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к усилению связывания белка с FcγR.
- 30 41) Выделенный белок по варианту осуществления 40, в котором по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к усилению связывания белка с FcγR, выбирают из группы, состоящей из S239D/I332E, S298A/E333A/K334A, F243L/R292P/Y300L,

F243L/R292P/Y300L/P396L, F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L и G236A/S239D/I332E, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

- 42) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 38–41, в котором FcγR представляет собой FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB или FcγRIII или любую их комбинацию.
- 43) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 19–42, в котором константная область Ig фрагмента константной области Ig содержит по меньшей мере одну мутацию, которая модулирует период полужизни белка.
- 44) Выделенный белок по варианту осуществления 43, в котором по меньшей мере одну мутацию, которая модулирует период полужизни белка, выбирают из группы, состоящей из H435A, P257I/N434H, D376V/N434H, M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F, T308P/N434A и H435R, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.
- 45) Выделенный белок по любому из вариантов осуществления 19–44, в котором указанный белок содержит по меньшей мере одну мутацию в домене СН3 константной области Ig.
- 46) Выделенный белок по варианту осуществления 45, в котором по меньшей мере одну мутацию в домене СН3 константной области Ig выбирают из группы, состоящей из T350V, L351Y, F405A, Y407V, T366Y, T366W, F405W, T394W, T394S, Y407T, Y407A, T366S/L368A/Y407V, L351Y/F405A/Y407V, T366I/K392M/T394W, F405A/Y407V, T366L/K392M/T394W, L351Y/Y407A, T366A/K409F, L351Y/Y407A, T366V/K409F, T366A/K409F, T350V/L351Y/F405A/Y407V и T350V/T366L/K392L/T394W, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.
- 47) Выделенный мультиспецифический белок, содержащий первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном.
- 48) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 47, в котором лимфоцитарный антиген представляет собой Т-клеточный антиген.
- 49) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 47, в котором Т-клеточный антиген представляет собой CD8<sup>+</sup> Т-клеточный антиген.
- 50) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 47, в котором лимфоцитарный антиген представляет собой NK-клеточный антиген.

- 51) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 47–50, в котором лимфоцитарный антиген представляет собой CD3, CD3 эпсилон (CD3ε), CD8, KI2L4, NKG2E, NKG2D, NKG2F, BTNL3, CD186, BTNL8, PD-1, CD195 или NKG2C.
- 5 52) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 51, в котором лимфоцитарный антиген представляет собой CD3ε.
- 53) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 47–52, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с
- 10 лимфоцитарным антигеном, содержит scFv, (scFv)<sub>2</sub>, Fv, Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fd, dAb или VHH.
- 54) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 53, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным
- 15 антигеном, содержат Fab.
- 55) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 53, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержат scFv.
- 20 56) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 55, в котором scFv содержит, от N- до C-конца, VH, первый линкер (L1) и VL (VH-L1-VL) или VL, L1 и VH (VL-L1-VH).
- 57) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 56, в котором L1 содержит:
- 25 а) около 5–50 аминокислот;
- б) около 5–40 аминокислот;
- в) около 10–30 аминокислот; или
- д) около 10–20 аминокислот.
- 58) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 57, в
- 30 котором L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.
- 59) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 58, в котором L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8.

- 60) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 47–59, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 70, 73, 75, 78, 81 или 85, HCDR2 с SEQ ID NO: 71, 76, 79, 82 или 86, HCDR3 с SEQ ID NO: 72, 74, 77, 80, 83, 84 или 87, LCDR1 с SEQ ID NO: 88, 91, 93, 95, 97, 99, 101 или 102, LCDR2 SEQ ID NO: 89 или 103, LCDR3 с SEQ ID NO: 90, 92, 94, 96, 98, 100 или 104.
- 61) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 47–60, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с
- a) SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно;
  - b) SEQ ID NO: 73, 71, 74, 91, 89 и 92 соответственно;
  - c) SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно;
  - d) SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно;
  - e) SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно;
  - f) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно;
  - g) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно;
  - h) SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно; или
  - i) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.
- 62) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 47–61, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит:
- a) VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;
  - b) VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;
  - c) VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;
  - d) VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;
  - e) VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;
  - f) VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;
  - g) VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;
  - h) VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;
  - i) VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67; или
  - j) VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.
- 63) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 47–61, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-

G, содержит VH с SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68 и VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.

64) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 47–63, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268 или 269.

65) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 47–56, в котором второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержит:

a) HCDR1 с SEQ ID NO: 361, HCDR2 с SEQ ID NO: 362, HCDR3 с SEQ ID NO: 363, LCDR1 с SEQ ID NO: 367, LCDR2 с SEQ ID NO: 368 и LCDR3 с SEQ ID NO: 369;

b) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 340;

c) HCDR1 с SEQ ID NO: 361, HCDR2 с SEQ ID NO: 362, HCDR3 с SEQ ID NO: 363, LCDR1 с SEQ ID NO: 367, LCDR2 с SEQ ID NO: 368 и LCDR3 с SEQ ID NO: 370;

d) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 341;

e) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 342;

f) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 343;

g) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 344;

h) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 345;

i) HCDR1 с SEQ ID NO: 364, HCDR2 с SEQ ID NO: 365, HCDR3 с SEQ ID NO: 366, LCDR1 с SEQ ID NO: 371, LCDR2 с SEQ ID NO: 372 и LCDR3 с SEQ ID NO: 373;

j) VH с SEQ ID NO: 346 и VL с SEQ ID NO: 347; или

k) VH с SEQ ID NO: 348 и VL с SEQ ID NO: 349.

66) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 47–65, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с первой константной областью иммуноглобулина (Ig) или фрагментом первой константной области Ig и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, конъюгирован со второй константной областью иммуноглобулина (Ig) или фрагментом второй константной области Ig.

- 67) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 66 дополнительно содержит второй линкер (L2) между первым антигенсвязывающим доменом, который связывается с HLA-G, и первой константной областью Ig или фрагментом первой константной области Ig и между вторым антигенсвязывающим доменом, который связывается с лимфоцитарным антигеном, и второй константной областью Ig или фрагментом второй константной области Ig.
- 68) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 67, в котором L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.
- 69) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 66–68, в котором первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig представляют собой изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.
- 70) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 66–69, в котором первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig содержат по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к ослаблению связывания мультиспецифического белка с FcγR.
- 71) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 70, в котором по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к ослаблению связывания мультиспецифического белка с FcγR, выбирают из группы, состоящей из L235A/D265S, F234A/L235A, L234A/L235A, L234A/L235A/D265S, V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S, F234A/L235A, S228P/F234A/L235A, N297A, V234A/G237A, K214T/E233P/L234V/L235A/G236-делеция/A327G/P331A/D365E/L358M, H268Q/V309L/A330S/P331S, S267E/L328F, L234F/L235E/D265A, L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S, S228P/F234A/L235A/G237A/P238S и S228P/F234A/L235A/G236-делеция/G237A/P238S, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.
- 72) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 66–69, в котором первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig содержат по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к усилению связывания мультиспецифического белка с Fcγ-рецептором (FcγR).

- 73) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 72, в котором по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к усилению связывания мультиспецифического белка с FcγR, выбирают из группы, состоящей из S239D/I332E, S298A/E333A/K334A, F243L/R292P/Y300L, F243L/R292P/Y300L/P396L, F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L и G236A/S239D/I332E, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.
- 74) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 70–73, в котором FcγR представляет собой FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB или FcγRIII или любую их комбинацию.
- 75) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 66–74, в котором первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig содержат по меньшей мере одну мутацию, которая модулирует период полужизни мультиспецифического белка.
- 76) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 75, в котором по меньшей мере одну мутацию, которая модулирует период полужизни мультиспецифического белка, выбирают из группы, состоящей из H435A, P257I/N434H, D376V/N434H, M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F, T308P/N434A и H435R, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.
- 77) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 66–76, содержащий по меньшей мере одну мутацию в домене СН3 первой константной области Ig или в домене СН3 фрагмента первой константной области Ig и/или по меньшей мере одну мутацию в домене СН3 второй константной области Ig или в домене СН3 фрагмента второй константной области Ig.
- 78) Выделенный мультиспецифический белок по варианту осуществления 77, в котором по меньшей мере одну мутацию в домене СН3 первой константной области Ig или в домене СН3 фрагмента первой константной области Ig и/или по меньшей мере одну мутацию в домене СН3 второй константной области Ig или в домене СН3 фрагмента второй константной области Ig выбирают из группы, состоящей из T350V, L351Y, F405A, Y407V, T366Y, T366W, F405W, T394W, T394S, Y407T, Y407A, T366S/L368A/Y407V, L351Y/F405A/Y407V, T366I/K392M/T394W, F405A/Y407V, T366L/K392M/T394W, L351Y/Y407A, T366A/K409F, L351Y/Y407A, T366V/K409F, T366A/K409F, T350V/L351Y/F405A/Y407V и

T350V/T366L/K392L/T394W, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

- 79) Выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 66–78, в котором первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig содержат следующие мутации:
- 5
- a) L235A\_D265S\_T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V в первой константной области Ig и L235A\_D265S\_T350V\_T366L\_K392L\_T394W во второй константной области Ig; или
- 10
- b) L235A\_D265S\_T350V\_T366L\_K392L\_T394W в первой константной области Ig и L235A\_D265S\_T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V во второй константной области Ig.
- 80) Иммуноконъюгат, содержащий выделенный белок по любому из вариантов осуществления 1–46, конъюгированный с терапевтическим агентом или агентом визуализации.
- 15
- 81) Фармацевтическая композиция, содержащая выделенный белок по любому из вариантов осуществления 1–46 и фармацевтически приемлемый носитель.
- 82) Полинуклеотид, кодирующий выделенный белок по любому из вариантов осуществления 1–46.
- 20
- 83) Вектор, содержащий полинуклеотид по варианту осуществления 82.
- 84) Клетка-хозяин, содержащая вектор по варианту осуществления 83.
- 85) Способ получения выделенного белка по любому из вариантов осуществления 1–46, включающий культивирование клетки-хозяина по варианту осуществления 84 в условиях, в которых происходит экспрессия белка, и выделение белка, продуцируемого клеткой-хозяином.
- 25
- 86) Иммуноконъюгат, содержащий выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 47–79, конъюгированный с терапевтическим агентом или агентом визуализации.
- 30
- 87) Фармацевтическая композиция, содержащая выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 47–79 и фармацевтически приемлемый носитель.
- 88) Полинуклеотид, кодирующий выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 47–79.

- 89) Вектор, содержащий полинуклеотид по варианту осуществления 88.
- 90) Клетка-хозяин, содержащая вектор по варианту осуществления 89.
- 91) Способ получения выделенного мультиспецифического белка по любому из вариантов осуществления 47–79, включающий культивирование клетки-хозяина по варианту осуществления 90 в условиях, в которых происходит экспрессия мультиспецифического белка, и выделение мультиспецифического белка, продуцируемого клеткой-хозяином.
- 92) Способ лечения рака, экспрессирующего HLA-G, у субъекта, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного белка по любому из вариантов осуществления 1–46, выделенного мультиспецифического белка по любому из вариантов осуществления 47–79, иммуноконъюгата по варианту осуществления 80 или 86 или фармацевтической композиции по варианту осуществления 81 или 87 субъекту в течение времени, достаточного для лечения рака, экспрессирующего HLA-G.
- 93) Способ уменьшения количества опухолевых клеток, экспрессирующих HLA-G, у субъекта, включающий введение выделенного белка по любому из вариантов осуществления 1–46, выделенного мультиспецифического белка по любому из вариантов осуществления 47–79, иммуноконъюгата по варианту осуществления 80 или 86 или фармацевтической композиции по варианту осуществления 81 или 87 субъекту в течение времени, достаточного для уменьшения количества опухолевых клеток, экспрессирующих HLA-G.
- 94) Способ по любому из вариантов осуществления 92–93, в котором рак, экспрессирующий HLA-G, представляет собой рак легкого, рак поджелудочной железы, рак почки, рак головы и шеи, рак яичника, рак пищевода или рак молочной железы.
- 95) Способ по любому из вариантов осуществления 92–94, в котором выделенный белок или выделенный мультиспецифический белок вводят в комбинации со вторым терапевтическим агентом.
- 96) Способ по варианту осуществления 95, в котором второй терапевтический агент представляет собой хирургическое вмешательство, химиотерапию или лучевую терапию или любую их комбинацию.
- 97) Способ обнаружения наличия рака у субъекта, включающий введение иммуноконъюгата по варианту осуществления 80 или 86 субъекту, предположительно имеющему рак, и визуализацию биологических структур, с

которыми связывается иммуноконъюгат, таким образом обнаруживая наличие рака.

- 98) Набор, содержащий выделенный белок по любому из вариантов осуществления 1–46, выделенный мультиспецифический белок по любому из вариантов осуществления 47–79, иммуноконъюгат по варианту осуществления 80 или 86 или фармацевтическую композицию по варианту осуществления 81 или 87.
- 99) Антиидиотипическое антитело, связывающееся с выделенным белком по любому из вариантов осуществления 1–46.
- 100) Выделенный белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с эпитопом на HLA-G, причем эпитоп представляет собой прерывистый эпитоп, содержащий аминокислотные последовательности HNPVFDYE (SEQ ID NO: 485) и VPS.
- 101) Выделенный белок, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 478 или 479.
- 102) Выделенный белок, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 478.
- 103) Выделенный белок, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 479.
- 104) Выделенный белок по варианту осуществления 102, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 490.
- 105) Выделенный белок по варианту осуществления 102 или 104, дополнительно содержащий аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 489 и 447.
- 106) Выделенный белок по варианту осуществления 105, дополнительно содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 439.
- 107) Выделенный белок, содержащий аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 465 и 468.
- 108) Выделенный белок, содержащий аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 466 и 469.
- 109) Выделенный белок, содержащий аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 467 и 470.

Представленные ниже примеры приведены для дополнительного описания некоторых из описанных в данном документе вариантов осуществления. Целью примеров является иллюстрация, а не ограничение описанных вариантов осуществления.

## ПРИМЕРЫ

### Пример 1. Получение клеточных линий HLA-G.

Клеточную линию хронического миелогенного лейкоза K562 (ATCC, CCL-243),  
 5 в которой отсутствует экспрессия всех HLA, включая белки MHC класса I: HLA-A  
 (Uniprot P01892), HLA-B (Uniprot P18464), HLA-C (Uniprot P30508) и HLA-E (Uniprot  
 P13747) (следовательно, подходят для уничтожения на основе NK-клеток)  
 трансдуцировали с применением лентивирусного вектора pCDH для экспрессии HLA-  
 G1 – IRES (сайт внутренней посадки рибосомы) –  $\beta$ -2-микроглобулин ( $\beta$ 2M, LPP-CS-  
 10 Z7412-I0035-02-200, Genecoroeia) или человеческий HLA-G (C42S) - IRES -  $\beta$ 2M (LPP-  
 CS-Z7412-I0035-01-200, Genecoroeia) в лентивирусных частицах (Genecoroeia) и  
 культивировали в IMDM, 10% FBS. На первом пассаже проводили селекцию с  
 применением 10 мкг/мл пурамицина (Gibco, A1113803) для обеспечения стабильной  
 экспрессии HLA-G. Клетки делили в соотношении 1:10, когда плотность достигала  
 15  $\sim 3 \times 10^6$  клеток/мл, приблизительно каждые 3–4 суток.

### Пример 2. Получение антител к HLA-G.

Антитела к HLA-G получали с применением трансгенных гуманизированных  
 крыс OmniRat®. Крысы OmniRat® содержат химерный человеческий/крысиный локус  
 20 IgH (содержащий 22 человеческих сегмента  $V_H$ , все человеческие сегменты D и  $J_H$  в  
 естественной конфигурации, связанные с крысиным локусом  $C_H$ ), а также полностью  
 человеческие локусы IgL (12  $V_{\kappa}$ s, связанных с  $J_{\kappa}$ - $C_{\kappa}$ , и 16  $V_{\lambda}$ s, связанных с  $J_{\lambda}$ - $C_{\lambda}$ ). (см.  
 например, Osborn, et al. (2013) J Immunol 190(4): 1481-1490). Соответственно, крысы  
 демонстрируют сниженную экспрессию крысиного иммуноглобулина, и в ответ на  
 25 иммунизацию внедренные человеческие трансгены тяжелой и легкой цепей  
 переключаются на экспрессию другого класса и подвергаются соматической мутации с  
 образованием высокоаффинных химерных человеческих/крысиных моноклональных  
 антител IgG с полностью человеческими вариabельными областями. Получение и  
 применение OmniRat® и геномные модификации в таких крысах описаны в  
 30 WO14/093908.

Крыс OmniRat® иммунизировали с применением конструкции, содержащей  $\alpha$ -  
 субъединицу либо рекомбинантного человеческого HLA-G1, либо рекомбинантного  
 человеческого HLA-G5, растворимой изоформы HLA-G, содержащей домены  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  и  
 $\alpha 3$ , но лишенной трансмембранной области, слитой с субъединицей  $\beta 2m$  и гистоном

Н2А, клетками К562, экспрессирующими HLA-G1, или ДНК, кодирующей внеклеточный домен HLA-G1 с мутацией С42S (таблица 1). В некоторых случаях пептид гистона Н2А сливали с антигеном для повышения стабильности. В таблице 4 показаны последовательности антигенов. Иммунизацию крыс OmniRat® проводили в Бельгии.

**Таблица 4. Последовательности антигенов, применяемые для получения антител.**

Пептид Н2А подчеркнут. Субъединица β2М выделена жирным шрифтом. Метки His, Avi- и Gly-Ser выделены курсивом.

Кампания	ID белка по а.к.	Последовательность	SEQ ID NO:
НУВ:420, гибридома, крысы ОМТ	MHGW8 (B2m-3(G4S)-HLA-G1-G4S-Avi)	<b>MIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLK NGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVN HVTLSQPKIVKWDRDMGGGGSGGGGSGGGGSGSHSMRYFSA AVSRPGRGEPFIAMGYVDDTQFVRFSDSASPRMEPRAPWVE QEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEASSHTL QWMIGCDLGS DGRLLRGYEQYAYDGKDYALNEDLRSWTA DTAAQISKRKCEAANVAEQRRAYLEGTCVEWLHRYLENGKEM LQRADPPKTHVTHHPVFDYEATLRCWALGFYPAEILTWQRD EDQTQDVELVETRPAGDGTFOKWA AVVPSGEEQRYTCHVQH EGLPEPLMLRWKQSSLPTPIGGGGSGLN DIFEAQKIEWHE</b>	41
НУВ:420, гибридома, крысы ОМТ	MHGW2 (H2A-2(G4S)-b2m-3(G4S)-HLA-G5-G4S-His-Avi)	<b>RIIPRHQLGGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLN CYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLY YTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRDMGGGGSGG GGSGGGSGSHSMRYFSA AVSRPGRGEPFIAMGYVDDTQFVR FSDSASPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMN LQTLRGYYNQSEASSHTLQWMIGCDLGS DGRLLRGYEQYAYD GKDYALNEDLRSWTAADTAAQISKRKCEAANVAEQRRAYLE GTCVEWLHRYLENGKEMLQRADPPKTHVTHHPVFDYEATLRC WALGFYPAEILTWQRDGEDQTQDVELVETRPAGDGTFOKWA AVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLMLRWSKEGGGIMSVRES RSLSEDLGGGGSHHHHHGSGLN DIFEAQKIEWHE</b>	42
НУВ:420, гибридома, крысы ОМТ	<sup>FL</sup> HLA-G1	GSHSMRYFSA AVSRPGRGEPFIAMGYVDDTQFVRFSDSACP RMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGY YNQSEASSHTLQWMIGCDLGS DGRLLRGYEQYAYDGKDYAL NEDLRSWTAADTAAQISKRKCEAANVAEQRRAYLEGTCVEWL HRYLENGKEMLQRADPPKTHVTHHPVFDYEATLRCWALGFYP AEILTWQRDGEDQTQDVELVETRPAGDGTFOKWA AVVPSGE EQRYTCHVQHEGLPEPLMLRWKQSSLPTIPIMGIVAGLVVLA AV VTGA AVAAVLWRKKSSD	43
НУВ:423, гибридома, крысы ОМТ	pDR000057441(H2A-3(G4S)-b2m-3G4S-HLA-G1-C42S)	Последовательность ДНК, первичная транскрипция: ATGGCTTGGGTGTGGACATTGTTGTTTCTGATGGCTGCTGCTC AATCTATTCAAGCTAGGATCATTCTAGACATCTGCAACTCG GAGGCGGAGGCAGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGG ATCTATTCAAGGACACCTAAGATTCAAGTGTACTCTAGACA TCCTGCTGAGAACGGCAAGACAACTTTCTGAAGTCTATGT GAGCGGCTTTCATCCTAGCGATATTGAAGTGGATCTGCTGAA AAACGGCGAACGTATTGAAAAAGTGGAACATAGCGATCTGA GCTTTAGCAAAGATTGGAGCTTTTATCTGCTGTATTATACCG AATTTACCCCTACCGAAAAAGATGAATATGCCTGCAGAGTG AACCATGTGACCCTGAGCCAGCCTAAGATTGTGAAATGGGA TAGAGATATGGGAGGAGGAGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTG GAGGCGGAGGCAGCGGCTCTCATAGCATGAGATTTTTAGC GCTGCAAGTGAAGCTCTGAGCTGGAGGAGGAGGAGGATTTATT GCTATGGGCTATGTGGATGATACCCAGTTTGTGAGGTTTGT AGCGATAGCGCTCTCTAGGATGGAACCTAGAGCTCCCTGG GTGGAACAGGAAGGCCAGAAATATTGGGAAGAAGAAACCA GGAACACCAAAGCACATGCTCAGACCGATCGTATGAACCTG	44

		<p>CAGACCCTGAGAGGCTATTATAACCAGAGCGAAGCATCTAG CCATACCCTGCAGTGGATGATTGGCTGCGATCTGGGCAGCGA TGGCAGACTGCTGAGAGGCTATGAACAGTATGCATATGATG GCAAAGATTATCTGGCACTGAACGAAGATCTGAGGAGCTGG ACCGCTGCTGATAACCGCTGCTCAGATTAGCAAGAGGAAGTG CGAAGCTGCTAACGTGGCTGAACAGAGACGCGCATATCTGG AAGGCACCTGCGTGAATGGCTGCATAGGTATCTGGAAAAC GGCAAAGAAATGCTGCAGAGAGCTGATCCTCCTAAAACCCA TGTGACCCATCATCCTGTGTTTATTATGAAGCTACCCTGAG GTGCTGGGCTCTGGGCTTCTATCCTGCTGAGATTATTCTGACC TGGCAGAGAGATGGAGAAGATCAGACTCAAGATGTCGAGTT GGTCGAGACTAGACCTGCTGGAGATGGCACCTTTCAGAAGT GGGCAGCTGTTGTCGTGCTAGCGGAGAAGAACAGAGATAT ACCTGCCATGTGCAGCATGAAGGCCTGCCTGAACCTCTGATG CTGAGGTGAAACAGAGCAGCTTGCCTACTATTCTATTGGA GGAGGAGGATCTACCATCATCATCACTGA</p>	
		<p>Последовательность зрелого белка: <b>QARIIPRHLOLGGGGSGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSRHPAEN GKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKD WSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM GGGGSGGGSGGGSGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPRIAMGY VDDTQFVRFSDSASPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKA HAQTRMNLQTLRGYYNQSEASSHTLQWMIGCDLGSDRLLR GYEQYAYDGKDYALNEDLRSWTAADTAAQISKRCKEAAANVA EQRRAYLEGTCEVWLHRYLENGKEMLQRADPPKTHVTHHPVF DYEATLRWALGFYPAEILTWQRDGEDQTQDVELVETRPAGD GTFQKWAADVVPSEEQRYTCHVQHEGLPEPLMLRWKQSSLP TIPIGGGGSHHHHHH</b></p>	45
<p>НУВ:421, гибридома, крысы ОМТ</p>		<p>Последовательность ДНК, первичная транскрипция: ATGGCTTGGGTGTGGACATTGTTGTTTCTGATGGCTGCTGCTC AATCTATTCAAGCTAGGATCATTCTAGACATCTGCAACTCG GAGGCGGAGGCAGCGGAGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGG ATCTATTAGAGGACACCTAAGATTCAAGTGTACTCTAGACA TCCTGCTGAGAACGGCAAGAGCAACTTCTGAACTGCTATGT GAGCGCTTTCATCCTAGCGATATTGAAGTGGATCTGCTGAA AAACGGCGAACGTATTGAAAAAGTGGAACATAGCGATCTGA GCTTTAGCAAAGATTGGAGCTTTTATCTGCTGTATTATACCG AATTTACCCCTACCGAAAAAGATGAATATGCCTGCAGAGTG AACCATGTGACCCTGAGCCAGCCTAAGATTGTGAAATGGGA TAGAGATATGGGAGGAGGAGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTG GAGGCGGAGGCAGCGCTCTCATAGCATGAGATATTTAGC GCTGCAGTGAGCCGCTCCTGGACGTGGAGAACCTAGGTTTATT GCTATGGGCTATGTGGATGATACCCAGTTTGTGAGGTTTGAT AGCGATAGCGCTCTCCTAGGATGGAACCTAGAGCTCCCTGG GTGGAACAGGAAGGCCAGAAATATTGGGAAGAAGAAACCA GGAACACCAAAGCACATGCTCAGACCGATCGTATGAACCTG CAGACCCTGAGAGGCTATTATAACCAGAGCGAAGCATCTAG CCATACCCTGCAGTGGATGATTGGCTGCGATCTGGGCAGCGA TGGCAGACTGCTGAGAGGCTATGAACAGTATGCATATGATG GCAAAGATTATCTGGCACTGAACGAAGATCTGAGGAGCTGG ACCGCTGCTGATAACCGCTGCTCAGATTAGCAAGAGGAAGTG CGAAGCTGCTAACGTGGCTGAACAGAGACGCGCATATCTGG AAGGCACCTGCGTGAATGGCTGCATAGGTATCTGGAAAAC GGCAAAGAAATGCTGCAGAGAGCTGATCCTCCTAAAACCCA TGTGACCCATCATCCTGTGTTTATTATGAAGCTACCCTGAG GTGCTGGGCTCTGGGCTTCTATCCTGCTGAGATTATTCTGACC TGGCAGAGAGATGGAGAAGATCAGACTCAAGATGTCGAGTT GGTCGAGACTAGACCTGCTGGAGATGGCACCTTTCAGAAGT GGGCAGCTGTTGTCGTGCTAGCGGAGAAGAACAGAGATAT ACCTGCCATGTGCAGCATGAAGGCCTGCCTGAACCTCTGATG CTGAGGTGAAACAGAGCAGCTTGCCTACTATTCTATTGGA GGAGGAGGATCTACCATCATCATCACTGA</p>	46
		<p>Последовательность зрелого белка: <b>RIIPRHLOLGGGGSGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSRHPAENGK SNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDW FYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDMGG GGSGGGSGGGSGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPRIAMGYVD</b></p>	47

		DTQFVRFDSASPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHA QTDRMNLQTLRGYYNQSEASSHTLQWMIGCDLGS DGRLLRGY EQYAYDGKDY LALNEDLRSWTAADTAAQISKRKCEAANVAEQ RRAYLEGTCVEWLHRYLENGKEMLQRADPPKTHVTHHPVFDY EATLRCWALGFYPAEII LTWQRDGEDQTQDVELVETRPAGDGT FQKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLMLRWKQSSLPTIP IGGGGSHHHHHH	
НУВ:420, гибридома, крысы ОМТ	pDR000066413 (Mafa-AG-ECD- G4S-6XHis-GS- Avi T)	GSHSMRYFYTAVSRPGRGQPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAESP RMEPRAPWVEQEGPEYWDRETQNMKTATQTYQANLRTLLRY YNQSEAGSHTFQKMYGCDLGPDRLLRGYEQFAYDGRDYIILN EDLRSWTAADMAAQNTQRKWEAAGAAEQHRTYLEGECEWL RRYLENGKETLQRADPPKTNVTHHPVSDYEATLRCWALGFYPA EITLTWQRDGEETEDTEL VETRPTGDGTFQKWAAVVVPSGEE QRYTCHVQHEGLPKPLTLR WEPSSQSTILIGGGGSHHHHHHSG LNDIFEAQKIEWHE	48
	pDR000047703 (бета 2- микроглобулин (b2M) яванского макака)	IQRTPKIQVYSRHPPE NGKPNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGEK MGKVEHSDLSFSKDW SFYLLYYTEFTPNKDEYACRVNHVTL S GPRTVKWDRDM	49

В отношении НУВ:420 крыс OmniRat иммунизировали два раза в неделю, в общей сложности введя 12 бустерных доз иммунизации, следуя протоколу многократной повторной иммунизации (RIMMS) с применением белков рекомбинантной человеческой HLA-G1, человеческой HLA-G5 и белков Mafa-AG яванского макака (гомолог HLA-G1). Окончательный клеточный бустер выполняли с применением клеточной линии, экспрессирующей hHLA-G1 K562, полученной из клеток K562 (ATCC® CCL-243™). Титры сыворотки определяли с помощью твердофазного ИФА с нанесенным на планшет иммуногеном. Дренирующие лимфатические узлы собирали для слияния лимфоцитов с клетками миеломы FO (ATCC® CRL-1646™) для получения гибридомы.

В отношении НУВ:423 крыс OmniRat иммунизировали пДНК HLA-G человека (pDR000057441 (таблица 3); вариант C>S) через большеберцовую мышцу с непосредственной последующей многократной электропорацией *in vivo*. Крысы получили окончательную бустерную дозу комбинации HLA-G человека и яванского макака по сравнению с экспрессирующими клетками. Дренирующие лимфатические узлы собирали и сливали с клетками миеломы FO для получения гибридомы.

В отношении НУВ:421 крыс OmniRat иммунизировали пДНК HLA-G человека в каждую большеберцовую мышцу с последующей электропорацией *in vivo*. Оценивали титры, которые находились в диапазоне от 0 до 800, в сутки 25. Крысам давали отдых в течение нескольких месяцев, а затем дополнительно иммунизировали пДНК с последующей окончательной бустерной дозой с клетками K562, экзогенно

сверхэкспрессирующими человеческое HLA-G. Нижние дренирующие лимфатические узлы применяли для получения нижестоящих гибридом.

Для выбора клонов антител для последующего скрининга, супернатанты гибридом подвергали скринингу на их способность связываться с клетками, экспрессирующими только человеческое HLA-G, а не с клетками, экзогенно экспрессирующими HLA-A, HLA-B и HLA-C, или клетками K562 дикого типа, которые не экспрессируют антигены МНС I класса клеточной поверхности. Для секвенирования и клонирования  $\nu$ -области отбирали супернатанты, которые демонстрировали > 20-кратное более высокое связывание с K562-HLA-G и 10-кратное более низкое связывание с K562-HLA-A/B/C (по сравнению с изотипическим контролем). Моноклональные антитела были получены как в молчащем формате — без эффекторной функции (IgG4 PAA или IgG1 AAS, где «PAA» означает P228S, L234A, L235A, а «AAS» означает мутацию L234A, L235A, D265S в нумерации ЕС), так и в активном формате — с нормальной эффекторной функцией (IgG1). Антитела экспрессировали в супернатанте из клеток CHO и выделяли с помощью аффинной хроматографии с белком А. Затем рекомбинантные антитела подвергали повторному скринингу (как описано выше) на селективность в отношении клеток, экспрессирующих HLA-G, а также на их способность связывать рекомбинантный HLA-G (MHGW2). На основе этих анализов была идентифицирована панель из 48 уникальных  $\nu$ -областей, и 8 уникальных  $\nu$ -областей были выбраны для дальнейшего анализа. Две из этих 8  $\nu$ -областей, полученных из MHGB688 и MHGB694, были оптимизированы по зародышевой линии, что дало MHGB738 и MHGB737, соответственно.

### 25 **Пример 3. Определение структурных характеристик антител к HLA-G**

Вариабельные домены выбранных антител к HLA-G экспрессировали в формате Fab, формате scFv в ориентации VH-линкер-VL или формате scFv в ориентации VL-линкер-VH.

### 30 **Вариабельные домены VH, VL и CDR**

В **таблице 5** приведены аминокислотные последовательности VH и VL выбранных антител к HLA-G. В **таблице 6** приведены HCDR1, HCDR2 и HCDR3 выбранных антител к HLA-G по Кэботу. В **таблице 7** приведены LCDR1, LCDR2 и LCDR3 выбранных антител к HLA-G по Кэботу. В **таблице 8** приведены HCDR1,

HCDR2 и HCDR3 выбранных антител к HLA-G по Чотиа. В **таблице 9** приведены LCDR1, LCDR2 и LCDR3 антител к HLA-G по Чотиа. В **таблице 10** приведены HCDR1, HCDR2 и HCDR3 выбранных антител к HLA-G по IMGT. В **таблице 11** приведены LCDR1, LCDR2 и LCDR3 антител к HLA-G по IMGT. В **таблице 12** приведены HCDR1, HCDR2 и HCDR3 выбранных антител к HLA-G по AbM. В **таблице 13** приведены LCDR1, LCDR2 и LCDR3 антител к HLA-G по AbM.

**Таблица 5. Последовательности варибельной области выбранных антител к HLA-G.**

Антитело	VH	SEQ ID NO:	VL	SEQ ID NO:
MHGB665 MHGB732	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISG DSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLG RTYYRSKWyNDYAVSVKSRITINPDT SKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCAGDR RYGIVGLPFAYWGQGLVTVSS	50	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS QSVLHSSNNKNYLTWFQKPGQPPK LLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCHQYYSTPPT FGQGTKVEIK	51
MHGB668	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISG DSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLG RTYYRSKWyNDYAVSVKSRITINPDT SKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARYG SGTLLFDYWGQGLVTVSS	52	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS QSVLYSSKNKNYLAWYQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYCQYYSTFP YTFGQGTKLEIK	53
MHGB669	QVQLQQSGPGLVRPSQTLSTLCAISG DSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWLG TYRSEWFNDYAVSVKSRVTINPDT KNQLSLQLNSVIPEDTAVYYCAREAR IGVAGKGFYWGQGLVTVSS	54	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS QSVLFRSNNKNYLAWFQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYCQYYSTPR TFGQGTKVEIK	55
MHGB672	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISG DSVSSNRAAWNWIRQSPSRGLEWLG RTYYRSEWYNDYAVSVKSRITINPDT SKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARVR AAVFDYWGQGLVTVSS	56	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS QSVLFSSNNKNYLAWYQKPGQPP NLLIYWASTRESGVPDRFSGSVSGTD FTLTISSLQAEDVAIYYCQYHSTPW TFGQGTKVEIK	57
MHGB687	QLQLQESGPGLVKPSETLSLMCTVSG GSITSSSYWGWRPPGKGLEWIGNI YYSGTYYNPSLKSRTISVDTSKNQ FSLKLSVTAADTAVYYCAAGARDF DSWGQGLVTVSS	58	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS QSVLYSSSNKSYLAWYQKPGQPPK LLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQYYSTPR MYTFGQGTKLEIK	59
MHGB688	EVQLLESGPGLVKPSQTLSTLTCVISGD SVSSNRAAWNWIRQSPSRGLEWLG TYRYSKWyNDYAVSVKSRITINSPTS KNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVRP GIPFDYWGQGTPTVTVSS	60	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS QSVLFSSNNKNYLAWYQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYCQQYNSTP WTFGQGTKVEIK	61
MHGB689	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLTCVISG DSVSSNRAAWNWIRQSPSRGLEWLG RTYYRSKWyNDYAVSVKSRITINSPT SKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVR PGIPFDYWGQGTPTVTVSS	62	DIQMTQSPDSLAVSLGERATINCESS QSVLFSSNNKNYLAWYQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTD FTLTINRLQAEDVAVYYCQQYNSTP WTFGQGTKVEIK	63
MHGB694	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFSSYAMHWVRQAPGKGLDWSGI SGSGFSTYYVDSVKGRFTISRDNKSH TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDNLV AGTVFDYWGQGLVTVSS	64	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRAS QSISWLAWYQKPGKAPKLLIYKA SSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYNSYSLTFGGGTK VDIK	65
MHGB737 (GL- оптимизиро- ванный B694)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFSSYAMHWVRQAPGKGLDWSGI SGSGFSTYYVDSVKGRFTISRDNKSN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDNLV AGTVFDYWGQGLVTVSS	66	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRAS QSISWLAWYQKPGKAPKLLIYKA SSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYNSYSLTFGGGTK VDIK	67

МНGB738 (GL- оптимизирова нный B688)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISG DSVSSNRAAWNWRQSPSRGLEWLG RTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDT SKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVR PGIPFDYWGQGTPTVTVSS	68	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS QSVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFSGSVSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYCQQYHSTP WTFGQGTKVEIK	69
---	--	----	---	----

**Таблица 6. HCDR1, HCDR2 и HCDR3 выбранных антител к HLA-G по Кэботу.**

Название мАт	HCDR1 по Кэботу		HCDR2 по Кэботу		HCDR3 по Кэботу	
	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:
МНGB665	SNSAAWN	70	RTYYRSKWYNDYAVSVKS	71	DRRYGIVGLPFAY	72
МНGB668	NNSAAWN	73	RTYYRSKWYNDYAVSVKS	71	YGSGLTLLFDY	74
МНGB669	SNSASWN	75	RTYYRSEWFNDYAVSVKS	76	EARIGVAGKGFY	77
МНGB672	SNRAAWN	78	RTYYRSEWYNDYAVSVKS	79	VRAAVPFY	80
МНGB687	SSSYWG	81	NIYSGTYYNPSLKS	82	GARDFDS	83
МНGB688	SNRAAWN	78	RTYYRSKWYNDYAVSVKS	71	VRPGIPFDY	84
МНGB689	SNRAAWN	78	RTYYRSKWYNDYAVSVKS	71	VRPGIPFDY	84
МНGB694	SYAMH	85	GISGSGFSTYYVDSVKG	86	DNLVAGTVFDY	87
МНGB732	SNSAAWN	70	RTYYRSKWYNDYAVSVKS	71	DRRYGIVGLPFAY	72
МНGB737	SYAMH	85	GISGSGFSTYYVDSVKG	86	DNLVAGTVFDY	87
МНGB738	SNRAAWN	78	RTYYRSKWYNDYAVSVKS	71	VRPGIPFDY	84

**Таблица 7. LCDR1, ICDR2 и LCDR3 выбранных антител к HLA-G по Кэботу.**

Название мАт	LCDR1 по Кэботу		LCDR2 по Кэботу		LCDR3 по Кэботу	
	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:
МНGB665	KSSQSVLHSSNNKNYLT	88	WASTRES	89	HQYYSTPPT	90
МНGB668	KSSQSVLYSSKNKNYLA	91	WASTRES	89	QQYYSTFPYT	92
МНGB669	KSSQSVLFRSNNKNYLA	93	WASTRES	89	QQYYSTPRT	94
МНGB672	KSSQSVLFSSNNKNYLA	95	WASTRES	89	QQYHSTPWT	96
МНGB687	KSSQSVLYSSSNKSYLA	97	WASTRES	89	QQYYSTPRMYT	98
МНGB688	KSSQSVLFSSNNKNYLA	99	WASTRES	89	QQYNSTPWT	100
МНGB689	ESSQSVLFSSNNKNYLA	101	WASTRES	89	QQYNSTPWT	100
МНGB694	RASQISSWLA	102	KASSLES	103	QQYNSYSLT	104
МНGB732	KSSQSVLHSSNNKNYLT	88	WASTRES	89	HQYYSTPPT	90
МНGB737	RASQISSWLA	102	KASSLES	103	QQYNSYSLT	104
МНGB738	KSSQSVLFSSNNKNYLA	95	WASTRES	89	QQYHSTPWT	96

**Таблица 8. HCDR1, hCDR2 и HCDR3 выбранных антител к HLA-G по Чотиа.**

Название мАт	HCDR1 по Чотиа		HCDR2 по Чотиа		HCDR3 по Чотиа	
	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:
МНGB665	GDSVSSNSA	105	YYRSKWY	106	DRRYGIVGLPFA	107
МНGB668	GDSVSNNSA	108	YYRSKWY	106	YGSGLLLFD	109
МНGB669	GDSVSSNSA	105	YYRSEWF	110	EARIGVAGKGFD	111
МНGB672	GDSVSSNRA	112	YYRSEWY	113	VRAAVPFD	114
МНGB687	GGITSSSY	115	YYSGT	116	GARDFD	117
МНGB688	GDSVSSNRA	112	YYRSKWY	106	VRPGIPFD	118
МНGB689	GDSVSSNRA	112	YYRSKWY	106	VRPGIPFD	118
МНGB694	GFTFSSY	119	SGSGFS	120	DNLVAGTVFD	121
МНGB732	GDSVSSNSA	105	YYRSKWY	106	DRRYGIVGLPFA	107
МНGB737	GFTFSSY	119	SGSGFS	120	DNLVAGTVFD	121
МНGB738	GDSVSSNRA	112	YYRSKWY	106	VRPGIPFD	118

**Таблица 9. LCDR1, ICDR2 и LCDR3 антител к HLA-G по Чотиа.**

Название мАт	LCDR1 по Чотиа		LCDR2 по Чотиа		LCDR3 по Чотиа	
	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:
МНGB665	SQSVLHSSNNKNY	122	WAS	123	YYSTPP	124
МНGB668	SQSVLYSSKNKNY	125	WAS	123	YYSTFPY	126
МНGB669	SQSVLFRSNNKNY	127	WAS	123	YYSTPR	128
МНGB672	SQSVLFSSNNKNY	129	WAS	123	YHSTPW	130
МНGB687	SQSVLYSSNKSYS	131	WAS	123	YYSTPRMY	496
МНGB688	SQSVLFSSNKKNY	132	WAS	123	YNSTPW	133
МНGB689	SQSVLFSSNKKNY	132	WAS	123	YNSTPW	133
МНGB694	SQSISSW	134	KAS	135	YNSYSL	136
МНGB732	SQSVLHSSNNKNY	122	WAS	123	YYSTPP	124
МНGB737	SQSISSW	134	KAS	135	YNSYSL	136
МНGB738	SQSVLFSSNNKNY	129	WAS	123	YHSTPW	130

**Таблица 10. HCDR1, hCDR2 и HCDR3 выбранных антител к HLA-G по IMGT.**

Название мАт	IMGT HCDR1		IMGT HCDR2		IMGT HCDR3	
	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:
МНGB665	GDSVSSNSAA	137	TYYRSKWYN	138	AGDRRYGIVGLPFAY	139
МНGB668	GDSVSNNSAA	140	TYYRSKWYN	138	ARYGSGTLLFDY	141
МНGB669	GDSVSSNSAS	142	TYYRSEWFN	143	AREARIGVAGKGFYD	144
МНGB672	GDSVSSNRAA	145	TYYRSEWYN	146	ARVRAAVPFYD	147
МНGB687	GGSITSSSY	148	IYYSGTT	149	AAGARDFDS	150
МНGB688	GDSVSSNRAA	145	TYYRSKWYN	138	ARVRPGIPFYD	151
МНGB689	GDSVSSNRAA	145	TYYRSKWYN	138	ARVRPGIPFYD	151
МНGB694	GFTFSSYA	152	ISGSGFST	153	AKDNLVAGTVFYD	154
МНGB732	GDSVSSNSAA	137	TYYRSKWYN	138	AGDRRYGIVGLPFAY	139
МНGB737	GFTFSSYA	152	ISGSGFST	153	AKDNLVAGTVFYD	154
МНGB738	GDSVSSNRAA	145	TYYRSKWYN	138	ARVRPGIPFYD	151

**Таблица 11. LCDR1, ICDR2 и LCDR3 антител к HLA-G по IMGT.**

Название мАт	IMGT LCDR1		IMGT LCDR2		IMGT LCDR3	
	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:
МНGB665	QSVLHSSNNKNY	155	WAS	123	HQYYSTPPT	156
МНGB668	QSVLYSSKNKNY	157	WAS	123	QQYYSTFPYT	92
МНGB669	QSVLFRSNNKNY	159	WAS	123	QQYYSTPRT	160
МНGB672	QSVLFSSNNKNY	161	WAS	123	QQYHSTPWT	162
МНGB687	QSVLYSSNKS	163	WAS	123	QQYYSTPRMYT	164
МНGB688	QSVLFSSNKKNY	165	WAS	123	QQYNSTPWT	166
МНGB689	QSVLFSSNKKNY	165	WAS	123	QQYNSTPWT	166
МНGB694	QSISSW	167	KAS	135	QQYNSYSLT	168
МНGB732	QSVLHSSNNKNY	155	WAS	123	HQYYSTPPT	156
МНGB737	QSISSW	167	KAS	135	QQYNSYSLT	168
МНGB738	QSVLFSSNNKNY	161	WAS	123	QQYHSTPWT	162

**Таблица 12. HCDR1, hCDR2 и HCDR3 выбранных антител к HLA-G по AbM.**

Название мАт	HCDR1 AbM		HCDR2 AbM		HCDR3 AbM	
	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:
МНGB665	GDSVSSNSAAWN	169	RTYYRSKWYND	170	DRRYGIVGLPFAY	171
МНGB668	GDSVSNNSAAWN	172	RTYYRSKWYND	170	YGSGLLLFDY	173
МНGB669	GDSVSSNSASWN	174	RTYYRSEWFND	175	EARIGVAGKGFYD	176
МНGB672	GDSVSSNRAAWN	177	RTYYRSEWYND	178	VRAAVPFYD	179
МНGB687	GGITSSSYWG	180	NIYSGTTY	181	GARDFDS	182
МНGB688	GDSVSSNRAAWN	177	RTYYRSKWYND	170	VRPGIPFYD	183
МНGB689	GDSVSSNRAAWN	177	RTYYRSKWYND	170	VRPGIPFYD	183
МНGB694	GFTFSSYAMH	184	GISGSGFSTY	185	DNLVAGTVFYD	186
МНGB732	GDSVSSNSAAWN	169	RTYYRSKWYND	170	DRRYGIVGLPFAY	171
МНGB737	GFTFSSYAMH	184	GISGSGFSTY	185	DNLVAGTVFYD	186
МНGB738	GDSVSSNRAAWN	177	RTYYRSKWYND	170	VRPGIPFYD	183

**Таблица 13. LCDR1, ICDR2 и LCDR3 антител к HLA-G по AbM.**

Название мАт	LCDR1 AbM		LCDR2 AbM		LCDR3 AbM	
	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:	Последовательность	SEQ ID NO:
МНGB665	KSSQSVLHSSNNKNYLT	187	WASTRES	188	HQYYSTPPT	189
МНGB668	KSSQSVLYSSKNKNYLA	190	WASTRES	188	QQYYSTFPYT	191
МНGB669	KSSQSVLFRSNNKNYLA	192	WASTRES	188	QQYYSTPRT	193
МНGB672	KSSQSVLFSSNNKNYLA	194	WASTRES	188	QQYHSTPWT	195
МНGB687	KSSQSVLYSSNKSYLA	196	WASTRES	188	QQYYSTPRMYT	197
МНGB688	KSSQSVLFSSNKKNYLA	198	WASTRES	188	QQYNSTPWT	199
МНGB689	ESSQSVLFSSNKKNYLA	200	WASTRES	188	QQYNSTPWT	199
МНGB694	RASQSISSWLA	201	KASSLES	202	QQYNSYSLT	203
МНGB732	KSSQSVLHSSNNKNYLT	187	WASTRES	188	HQYYSTPPT	189
МНGB737	RASQSISSWLA	201	KASSLES	202	QQYNSYSLT	203
МНGB738	KSSQSVLFSSNNKNYLA	194	WASTRES	188	QQYHSTPWT	195

## 5 Оптимизация зародышевой линии

Последовательности v-области антител анализировали на риск потенциальных посттрансляционных модификаций, на пригодность зародышевой линии и на их способность форматироваться в виде scFv. Два антитела, МНGB694 и МНGB688, были оптимизированы по зародышевой линии. V-область МНGB694 содержала две мутации

зародышевой линии (E46D и N77H), и, таким образом, эта v-область была оптимизирована путем обратной мутации этих остатков в последовательность зародышевой линии в этих сайтах для получения вариабельной области MHGB737 путем мутации D46E и N77H в домене VH. V-область MHGB688 была аналогичным образом оптимизирована путем мутации E1Q, L5Q, E6Q и S71P в домене VH и путем мутации K30E, G66V в VL. Было обнаружено, что MHGB688 также содержит мотив «NS» в положениях 92–93 (Кэбот), что представляет риск дезамидирования. Поскольку VL MHGB672 имела идентичные LC-CDR, за исключением того, что она содержала «HS» в положениях 92–93, был мутирован N92H. Эта комбинация изменений дала MHGB738.

### **Fab-Fc и scFv**

HLA-G-специфичные домены VH/VL были сконструированы для экспрессии либо в формате антитела, либо в виде scFv, либо в виде плеча биспецифического (либо в виде Fab-Fc, либо в виде scFv-Fc). Формат антитела и формат биспецифического плеча Fab-Fc включали тяжелую цепь как VH-CH1-шарнирная область-CH2-CH3 и легкую цепь как VL-CL и экспрессировались как IgG2 или IgG4. Формат scFv-Fc включал либо ориентацию VH-линкер-VL-Fc, либо ориентацию VL-линкер-VH-Fc. Линкер, используемый в scFv, представлял собой линкер с SEQ ID NO: 8, описанный выше. scFv-Fc и Fab-Fc применяли для получения биспецифических антител, как описано в примере 10.

В **таблице 14** показаны аминокислотные последовательности HC выбранных антител к HLA-G. В **таблице 15** показаны аминокислотные последовательности LC выбранных антител к HLA-G. В **таблице 16** обобщены SEQ ID NO ДНК HC и LC выбранных антител к HLA-G. В **таблице 17** показаны аминокислотные последовательности выбранных scFv в ориентации VH-линкер-VL или VL-линкер-VH. В **таблице 18** показаны аминокислотные последовательности выбранных scFv-Fc. В **таблице 19** показаны SEQ ID NO ДНК scFv и scFv-Fc выбранных антител к HLA-G в формате scFv-Fc.

**Таблица 14. Аминокислотная последовательность HC (VH-CH1-шарнирная область-CH2-CH3) выбранных антител к -HLA-G в формате МАТ.**

ТЯЖЕЛАЯ ЦЕПЬ HLA-G	SEQ ID NO:	АМИНОКИСЛОТНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
MHGB665 HC	204	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKW YNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCAGDRRYGIVGLPFAYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPGK
MHGB668 HC	205	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSK WYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARYGSGTLLFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPGK
MHGB669 HC	206	QVQLQQSGPGLVVRPSQTLSTCAISGDSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSEW FNDYAVSVKSRVTINPDTSKNQSLQLNSVIPEDTAVYYCAREARIGVAGKGFYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPGK
MHGB672 HC	207	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNRAAWNWIRQTPSRGLEWLGRITYYRSEW YNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARVRAAVPFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPGK
MHGB687 HC	208	QLQLQESGPGGLVKPSQTLSTLCTVISGDSVSSNRAAWNWIRQPPGKGLEWIGNIYSGTTY YNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAAGARDFDSWGQGLVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPGK
MHGB688 HC	209	EVQLLESGPGLVKPSQTLSTLCTVISGDSVSSNRAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKW YNDYAVSVKSRITINSDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVRPGIPFDYWGQGT PTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPGK
MHGB689 HC	210	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCTVISGDSVSSNRAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSK WYNDYAVSVKSRITINSDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVRPGIPFDYWGQGT TVVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPGK
MHGB694 HC	211	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLDWWVSGISGSGFSTY YVDSVKGRFTISRDNKHTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAKDNLVAGTVFDYWGQGT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV

		LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
MHGB732 HC	212	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYSKWK YNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCAGDRRYGIVGLPFAYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
MHGB737 HC	213	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISGSGFSTY YVDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDNLVAGTVFDYWGQGLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
MHGB738 HC	214	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSSNRAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYSK WYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVRPGIPFDYWGQGPV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

**Таблица 15 Аминокислотные последовательности LC (VL-CL) выбранных антител к HLA-G в формате mAb (Fab-Fc).**

ЛЕГКАЯ ЦЕПЬ HLA-G	SEQ ID NO:	АМИНОКИСЛОТНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
MHGB665	215	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLHSSNNKKNYLWTFQKPGQPPKLLIYWASTR ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQYYSTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY SLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
MHGB668	216	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSKNKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYYSTFPYTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
MHGB669	217	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFRSNNKKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYYSTPRYTFGQGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY YLSLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
MHGB672	218	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSNNKKNYLAWYQKPGQPPNLLIYWAST RESGVPDRFSGSVSGTDFTLTISSLQAEDVAIYYCQYYHSTPWTFGQGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY YLSLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
MHGB687	219	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNKSYLAWYQQRPGQPPKLLIYWASTR ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYYSTPRYTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
MHGB688	220	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSNNKKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYNSSTPWTFGQGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY YLSLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
MHGB689	221	DIQMTQSPDSLAVSLGERATINCESSQSVLFSNNKKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWASTR ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINRLQAEDVAVYYCQYNSSTPWTFGQGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY YLSLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

MHGB694	222	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLA WYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPS RFSGSGSGTEFTLTISLQPD F ATYYCQQYNSYSLTFGGGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTL SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
MHGB732	223	divmtqspdslavslgeratinckssqsvl hssnnknyltwffqkpgppklliywastresgvpdrfsgsgsgtdftlisslqaedvav yychqyystpftfgqtkveikrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvcllnnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdysts lsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec
MHGB737	224	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLA WYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPS RFSGSGSGTEFTLTISLQPD F ATYYCQQYNSYSLTFGGGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTL SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
MHGB738	225	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLA WYQQKPGQPPKLLIY WAST RESGVPDRFSGSVSGTDFTLTISLQAEDVA VYYCQQYHSTPWTFGQGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY YSLSTLTL SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**Таблица 16. SEQ ID NO последовательностей кДНК HC и LC выбранных антител к HLA-G**

Антитело	кДНК HC с SEQ ID NO:	кДНК LC с SEQ ID NO:
MHGB665	226	227
MHGB668	228	229
MHGB669	230	231
MHGB672	232	233
MHGB687	234	235
MHGB688	236	237
MHGB689	238	239
MHGB694	240	241
MHGB732	242	243
MHGB737	244	245
MHGB738	246	247

5 SEQ ID NO: 226

CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGCCCTGGACTGGTGAAGCCCAGCCAGAC  
CCTGAGCCTGACCTGCGCTATCAGCGGCGATAGCGTGAGCTCCAACAGCGCCGCC  
TGGA ACTGGATCAGGCAGAGCCCTAGCAGGGGCCTGGAATGGCTGGGCAGGACC  
TACTACAGGAGCAAGTGGTACAACGACTACGCCGTGTCCGTGAAGAGCAGGATC  
10 ACCATCAACCCCGACACCAGCAAGAACCAGATCAGCCTGCAGCTGAACAGCGTG  
ACCCCGAGGACACCGCCGTGTA CTACTGCGCCGGCGACAGAAGGTACGGCATC  
GTGGGCCTGCCTTTCGCCTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTGACCGTGAGCAGCG  
CCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCT  
GGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTG  
15 ACGGTGTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACTTCCCGGCTG  
TCCTACAGTCCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG  
CAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACC

AAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCA  
 CCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAA  
 AACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGT  
 GGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGT  
 5 GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTA  
 CCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG  
 TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCT  
 CCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCC  
 GGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT  
 10 ATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA  
 ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAA  
 GCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTG  
 ATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGG  
 GTAAA

15 SEQ ID NO: 227

GACATCGTGATGACCCAGAGCCCCGATAGCCTGGCTGTGAGCCTGGGGCGA  
 GAGAGCCACCATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGCTGCACAGCAGCAACAA  
 CAAGAACTACCTGACCTGGTTCAGCAGAAGCCCAGCCTCCCAAGCTGCTG  
 ATCTACTGGGCTAGCACCAGAGAGTCCGGCGTGCCTGACAGGTTACAGCGGAAGC  
 20 GGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGACGTG  
 GCCGTGTACTACTGCCACCAGTACTACAGCACCCCCCTACCTTTGGCCAGGGCA  
 CCAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCC  
 ATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC  
 TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCG  
 25 GGTAACCTCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGC  
 CTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC  
 GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACA  
 GGGGAGAGTGT

SEQ ID NO: 228

30 CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGACCCGGCCTGGTGAACCCAGCCAGAC  
 CCTGAGCCTGACCTGCGCCATCAGCGGCGACAGCGTGAGCAACAACAGCGCCGC  
 CTGGAAGTGGATCAGGCAGAGCCCCAGCAGAGGCCTGGAATGGCTGGGCAGGAC  
 CTACTACAGGAGCAAGTGGTACAACGACTACGCCGTGAGCGTGAAGAGCAGGAT  
 CACCATCAACCCCGACACCTCCAAGAACCAGTTCAGCCTGCAGCTGAACAGCGTG

ACCCCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTATGGCAGCGGCACCCTGC  
 TGTTCTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGAGCAGCGCCTCCACCAA  
 GGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACA  
 GCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT  
 5 GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTC  
 CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGC  
 ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC  
 AAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCTGCCAG  
 CACTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAACCCAAGGA  
 10 CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC  
 CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAT  
 AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC  
 AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC  
 AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCA  
 15 AAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGA  
 TGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA  
 CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCAC  
 GCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTTCTACAGCAAGCTCACCGTGG  
 ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG  
 20 CTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

SEQ ID NO: 229

GACATCGTGATGACCCAGAGCCCCGATAGCCTGGCTGTGAGCCTGGGAGA  
 GAGGGCCACCATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGCTGTACAGCAGCAAGAA  
 CAAGAACTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCCGGCCAGCCCCCAAGCTGCT  
 25 GATCTACTGGGCCAGCACAAGGGAAAGCGGCGTGCCCGACAGATTCAGCGGAAG  
 CGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGATGT  
 GGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACTACAGCACCTTCCCCTACACCTTCGGCCAG  
 GGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCC  
 CGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA  
 30 TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCA  
 ATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTA  
 CAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT  
 CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTC  
 AACAGGGGAGAGTGT

SEQ ID NO: 230

CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGACCCGGACTGGTGAGACCCAGCCAGAC  
CCTGAGCGTGACCTGCGCCATCAGCGGCGACAGCGTGAGCAGCAACAGCGCCAG  
CTGGAAGTGGATCAGGCAGAGCCCCAGCAGAGGCCTGGAGTGGCTGGGAAGGAC  
5 A TACTACAGGAGCGAGTGGTTCAACGACTACGCCGTGAGCGTGAAGAGCAGGGT  
GACCATCAACCCCGACACCAGCAAGAACCAGCTGAGCCTGCAGCTGAACAGCGT  
GATCCCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGAGGCCAGAATCGGCGT  
GGCCGGCAAAGGCTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCCAG  
CGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACC  
10 TCTGGGGGACACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGG  
TGACGGTGTGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGC  
TGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCA  
GCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACA  
CCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCC  
15 CACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCC  
AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTG  
GTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC  
GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGC  
TACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGG  
20 AGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCA  
TCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATC  
CCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTT  
CTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA  
CTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTTCTACAGCA  
25 AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT  
GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCG  
GGTAAA

SEQ ID NO: 231

GACATCGTGATGACCCAGAGCCCTGACTCCCTGGCTGTGAGCCTGGGCGA  
30 GAGAGCCACCATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGCTGTTCAAGGAGCAACAA  
CAAGA ACTACCTGGCCTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCTCCAAGCTGCTG  
ATCTACTGGGCCAGCACCCAGAGAGAGCGGCGTGCCCGATAGATTTAGCGGCAGC  
GGCAGCGGCACCGACTTTACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGGCCGAGGATGTGG  
CCGTGTACTACTGCCAGCAGTACTACAGCACCCCCAGAACCTTCGGCCAGGGCAC

CAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCA  
 TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTT  
 CTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGG  
 TAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCT  
 5 CAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGC  
 CTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGG  
 GGAGAGTGT

SEQ ID NO: 232

CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGACCTGGCCTGGTGAAGCCCAGCCAGAC  
 10 CCTGAGCCTGACATGCGCCATCAGCGGCGACAGCGTGAGCAGCAATAGGGCCGC  
 CTGGAAGTGGATCAGGCAGACCCCTAGCAGGGGCCCTGGAATGGCTGGGCAGGAC  
 ATACTACAGGAGCGAGTGGTACAACGACTACGCCGTGTCCGTGAAGAGCAGGAT  
 CACCATCAACCCCGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGCAGCTGAACAGCGT  
 GACCCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGTGAGAGCCGCCGTGCCT  
 15 TTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGAGCAGCGCCTCCACCAAG  
 GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAG  
 CGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTG  
 GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCC  
 TCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCA  
 20 CCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA  
 AGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGC  
 ACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAACCCAAAGGAC  
 ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC  
 ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATA  
 25 ATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCA  
 GCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA  
 AGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAA  
 AGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGAT  
 GACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGAC  
 30 ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACG  
 CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTTCTACAGCAAGCTCACCGTGGA  
 CAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT  
 CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

SEQ ID NO: 233

GACATCGTGATGACCCAGAGCCCCGATAGCCTGGCTGTGAGCCTGGGCGA  
 GAGGGCCACCATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGCTGTTTTCCAGCAACAA  
 CAAGAACTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCCGGCCAGCCCCCAACCTGCTG  
 ATCTACTGGGCCAGCACCAGAGAAAGCGGGCGTGCCCGACAGGTTTAGCGGCAGC  
 5 GTGAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGACGTG  
 GCCATCTACTACTGCCAGCAGTACCACAGCACCCCCTGGACATTCGGCCAGGGCA  
 CCAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCC  
 ATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC  
 TTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCG  
 10 GGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGC  
 CTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC  
 GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACA  
 GGGGAGAGTGT

SEQ ID NO: 234

15 CAGCTGCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGACTGGTGAAGCCCAGCGAGAC  
 CCTGAGCCTGATGTGCACCGTGAGCGGGCGGCAGCATCACCAGCAGCAGCTACTAC  
 TGGGGATGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCAACATC  
 TACTACAGCGGCACCACCTACTACAACCCCAGCCTGAAGAGCAGGGTGACCATC  
 AGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCT  
 20 GCCGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCGCCGGAGCCAGAGACTTCGACAGCTGGG  
 GACAGGGCAGCCTGGTGACCGTGTCCAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTT  
 CCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGC  
 CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCCC  
 TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTC  
 25 CCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCAGACCTACATC  
 TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCC  
 AAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGG  
 GGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTC  
 CCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA  
 30 GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA  
 GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT  
 CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAA  
 AGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCG  
 AGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA

GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAG  
TGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG  
GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT  
GGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCA  
5 CTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTA

SEQ ID NO: 235

GACATCGTGATGACCCAGAGCCCTGATAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGAGA  
GAGAGCCACCATCAACTGCAAGTCTCCAGAGCGTGCTGTACAGCTCCAGCAAC  
AAGAGCTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAGGCCCGGACAGCCTCCCAAGCTGCTG  
10 ATCTACTGGGCCAGCACCAGAGAGAGCGGCGTGCCTGACAGGTTTAGCGGCTCC  
GGCTCCGGCACCGACTTTACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGATGTGG  
CCGTGTACTACTGCCAGCAGTACTACAGCACCCCCAGGATGTACACCTTCGGCCA  
GGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC  
CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGA  
15 ATA ACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCC  
AATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCT  
ACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAG  
TCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTT  
CAACAGGGGAGAGTGT

20 SEQ ID NO: 236

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGAC  
CCTCTCACTCACCTGTGTCTATCTCCGGGGACAGTGTCTCTAGCAACAGAGCTGCTT  
GGA ACTGGATCAGGCAGTCCCCATCGAGAGGCCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACAT  
ACTACAGGTCCAAGTGGTATAATGATTATGCAGTATCTGTGAAAAGTCGAATAAC  
25 CATCAATTCAGACACATCCAAGAACCAGATCTCCCTGCAGTTGAACTCTGTGACT  
CCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCAAGAGTGAGACCGGGGATCCCATTTG  
ACTACTGGGGCCAGGGAACCCCGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCC  
ATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC  
CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAACT  
30 CAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGG  
ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG  
ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAA  
GTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA ACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG  
AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCT

CATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA  
 GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC  
 AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC  
 CTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT  
 5 CCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGC  
 AGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA  
 AGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGC  
 CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCC  
 CGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG  
 10 AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGC  
 ACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

SEQ ID NO: 237

GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAG  
 AGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTTCAGCTCCAACAAAA  
 15 AGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCCCCTAAGCTGCTCAT  
 TTAAGTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGGCAGCGGG  
 TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAG  
 TTTATTACTGTCAGCAATATAATAGTACTCCGTGGACGTTCCGGCCAAGGGACCAA  
 GGTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCT  
 20 GATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCT  
 ATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA  
 ACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCA  
 GCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCT  
 GCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGG  
 25 GAGAGTGT

SEQ ID NO: 238

CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGAC  
 CCTCTCACTCACCTGTGTCATCTCCGGGGACAGTGTCTCTAGCAACAGAGCTGCCT  
 GGAAGTGGATCAGGCAGTCCCCATCGAGAGGCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACAT  
 30 ACTACAGGTCCAAGTGGTATAATGATTATGCAGTTTCTGTGAAAAGTCGAATAAC  
 CATCAATTCAGACACATCCAAGAACCAGATCTCCCTGCAGTTGAACTCTGTGACT  
 CCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCAAGAGTGAGACCGGGGATCCCTTTTG  
 ACTACTGGGGCCAGGGAACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCC  
 ATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC

CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGA  
 CAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGG  
 ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG  
 ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAA  
 5 GTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCACAGCACCTG  
 AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCT  
 CATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA  
 GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC  
 AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC  
 10 CTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT  
 CCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGC  
 AGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA  
 AGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGC  
 CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCC  
 15 CGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG  
 AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGC  
 ACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

SEQ ID NO: 239

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAG  
 20 AGGGCCACCATCAACTGCGAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTTCAGCTCCAACAAAA  
 AGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCCCCTAAGCTGCTCAT  
 TTAAGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGG  
 TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAACCGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAG  
 TTTATTACTGTCAGCAATATAATAGTACTCCGTGGACGTTCCGGCCAAGGGACCAA  
 25 GGTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCT  
 GATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCT  
 ATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA  
 ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCA  
 GCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCT  
 30 GCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGG  
 GAGAGTGT

SEQ ID NO: 240

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCT  
 CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGCACT

GGGTCCGCCAGGCCCCAGGGAAGGGGCTGGACTGGGTCTCAGGTATTAGTGGTA  
 GTGGCTTTAGCACATACTATGTAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAG  
 AGACAATTCCAAGCACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGA  
 CACGGCCGTATATTACTIONGTGCGAAAGATAATTTAGTGGCTGGTACCGTCTTTGAC  
 5 TACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAT  
 CGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCT  
 GGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCA  
 GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGAC  
 TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGAC  
 10 CTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGT  
 TGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAA  
 CTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCA  
 TGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA  
 CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAA  
 15 GACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCT  
 CACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTC  
 CAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCA  
 GCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAA  
 GAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC  
 20 GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCC  
 GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA  
 GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA  
 CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

SEQ ID NO: 241

25 GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC  
 AGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGT  
 ATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATAAGGCGTCTAGTTT  
 AGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCAC  
 TCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTATTACTIONGCCAACAGT  
 30 ATAATAGTTATTCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGATATCAAACGTAC  
 GGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTG  
 GAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGT  
 ACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTAC  
 AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG

CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGG  
CCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

SEQ ID NO: 242

CAAGTACAACCTGCAACAAAGTGGTCCTGGGCTCGTGAAGCCTTCCCAGAC  
5 TCTCAGCCTCACATGCGCTATAAGTGGGGATTCTGTTTCCTCAAATTCAGCAGCCT  
GGAATTGGATACGACAGTCTCCATCCCGTGGCCTTGAGTGGCTTGGTAGAACTTA  
TTACCGATCCAAGTGGTACAATGATTACGCCGTTTCAGTGAAGTCCCGCATTACT  
ATTAATCCCGACACATCTAAGAATCAAATTTTCATTGCAACTGAATAGCGTAACAC  
CCGAAGATACAGCAGTTTATTATTGTGCAGGTGATCGACGCTACGGCATAGTGGG  
10 ACTTCCTTTCGCCTATTGGGGCCAAGGGACACTGGTCACTGTGTCATCCGCCTCCA  
CCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGG  
CACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTG  
TCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTAC  
AGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTT  
15 GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT  
GGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGTCCACCGTGC  
CCAGCACCTGAACTGCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCA  
AGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGT  
GAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT  
20 GCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGT  
GGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA  
GTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA  
GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAG  
GAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA  
25 GCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGA  
CCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACC  
GTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATG  
AGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT

SEQ ID NO: 243

30 GACATCGTAATGACACAGTCACCAGATTCATTGGCAGTTAGTCTGGGTGAA  
AGGGCAACAATCAACTGCAAGTCTTCTCAGAGTGTACTGCATAGTTCTAACAATA  
AGAACTACCTTACCTGGTTTCAACAGAAACCAGGTCAGCCCCCAAGTTGCTGAT  
TACTGGGCAAGCACCCGCGAATCCGGCGTTCCCGATCGATTTTCAGGTTCCGGG  
AGTGGGACCGACTTTACCTTGACCATCTCTTCTTGCAGGCCGAAGATGTAGCCG

TCTATTACTGCCATCAGTATTACTCTACTCCCCCACATTTCGGTCAAGGTACAAAA  
GTTGAGATAAAACGGACAGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTTCATCTTCCCACCTTCCGA  
CGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTAC  
CCTCGGGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAAC  
5 TCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTCT  
CCACACTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGGTGTACGCCTGCG  
AAGTGACCCATCAGGGCCTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTTCAACCGGGGCGA  
GTGT

SEQ ID NO: 244

10 GAGGTGCAACTCCTTGAATCAGGCGGAGGACTCGTCCAACCTGGAGGGAG  
TCTTAGGCTTAGCTGTGCAGCCAGTGGCTTTACTTTTAGCAGCTATGCAATGCACT  
GGGTCAGGCAGGCTCCTGGTAAGGGGCTCGAATGGGTCAGCGGCATATCCGGGT  
CAGGTTTCTCTACATATTATGTCGATTCTGTAAAAGGACGATTCACCATATCCAGA  
GACAATTCTAAAAATACCTTGTATCTCCAGATGAACAGCCTGAGAGCAGAAGATA  
15 CCGCAGTTTATTACTGTGCAAAGGATAATCTGGTTGCCGGGACAGTTTTTGATTAT  
TGGGGGCAAGGCACCCTCGTCACAGTATCCAGTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGG  
TCTTCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG  
CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAACTCAGGC  
GCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCT  
20 ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTA  
CATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGA  
GCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGTCCACCGTGCCAGCACCTGAACTG  
CTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGA  
TCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC  
25 TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC  
AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCAC  
CGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAA  
CAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCC  
CCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAA  
30 CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTG  
GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTG  
CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTA  
GATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAA  
CCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT

SEQ ID NO: 245

GATATTCAGATGACTCAATCACCTTCAACCCTTAGCGCCTCCGTTGGAGAT  
 CGCGTTACCATTACCTGCCGAGCCTCCCAAAGTATCAGCTCATGGTTGGCATGGT  
 ATCAACAGAAGCCTGGAAAGGCACCCAAACTTCTGATTTACAAAGCCAGCTCCTT  
 5 GGAGTCAGGAGTCCCAAGCCGGTTCAGCGGATCTGGGTGAGGGACAGAATTTAC  
 CCTGACCATATCTTCCCTTCAGCCCGACGACTTCGCCACTTACTATTGTCAGCAAT  
 ACAACTCCTATTCCCTGACTTTCGGCGGTGGCACAAAGGTTGACATCAAGCGGAC  
 AGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTTATCTTCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCG  
 GCACAGCTTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCTCGGGAAGCCAAGGT  
 10 GCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAAGAGTCTGTGAC  
 CGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTCCTCCACACTGACCCTGTCC  
 AAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCATCAGGGC  
 CTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTTCAACCGGGGCGAGTGT

SEQ ID NO: 246

15 CAGGTGCAGCTTCAACAGAGCGGACCTGGTCTGGTTAAGCCTTCCCAAACC  
 CTGAGCCTGACTTGTGCTATTTCCGGGGATAGTGTTAGCTCCAATAGGGCAGCAT  
 GGAAGTGGATCAGACAGTCCCAAGCCGTGGACTTGAGTGGCTTGGACGTACTTA  
 TTACAGGAGTAAATGGTACAATGATTATGCCGTTTCTGTGAAGAGCCGTATTACT  
 ATAAACCCAGATACTTCTAAAAATCAAATTTCCCTTCAGCTCAACTCAGTTACAC  
 20 CAGAGGATACTGCAGTCTATTATTGCGCAAGAGTTCGACCTGGCATTCCCTTCGA  
 TTATTGGGGGCAGGGGACACCCGTTACTGTGTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCA  
 TCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC  
 TGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTC  
 AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGA  
 25 CTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGA  
 CCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAG  
 TTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGTCCACCGTGCCCAGCACCTGA  
 ACTGCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCC AAAACCAAGGACACCCTC  
 ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAG  
 30 ACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA  
 AGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCC  
 TCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTC  
 CAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCA  
 GCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAA

GAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC  
 GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCC  
 GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGT  
 CTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA  
 5 CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT

SEQ ID NO: 247

GATATTGTTATGACACAGTCCCCAGATTCATTGGCAGTAAGCCTCGGTGAA  
 CGGGCTACTATTAAGTCTTCCCAGAGTGTATTGTTCTCTTCAAATAACAA  
 AAACCTACCTGGCATGGTATCAGCAAAAGCCTGGTCAACCCCTAAACTTCTCATA  
 10 TACTGGGCATCCACTCGGGAGAGCGGTGTGCCAGACCGTTTCTCAGGGAGTGTGT  
 CAGGTACAGATTTTACACTCACAATTTCCAGCCTCCAAGCCGAAGACGTTGCAGT  
 ATATTATTGCCAACAATATCACTCTACACCTTGGACATTTGGTCAAGGTAATAAA  
 GTCGAAATCAAACGGACAGTGGCCGCTCCTCCGTGTTTCATCTTCCCACCTTCCGA  
 CGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCTTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTAC  
 15 CCTCGGGAAGCCAAGGTGCAGTGGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAAC  
 TCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTCTT  
 CCACACTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGGTGTACGCCTGCG  
 AAGTGACCCATCAGGGCCTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTCAACCGGGGCGA  
 GTGT

20

**Таблица 17. Аминокислотные последовательности scFv антител HLA-G в формате VH-линкер-VL (HL) или в формате VL-линкер-VH (LH).**

Сокращение	Аминокислотная последовательность scFv	SEQ ID NO:
MHGB665-HL	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYR SKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCAGDRRYGIVGLPF AYWGQGLTVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLHSSNNKNYLTWFQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSDTDFTL TISSLQAEDVAVYYCHQYYSTPPTFGQGTKVEIK	248
MHGB665-LH	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLHSSNNKNYLTWFQQKPGQPPKLLIYW ASTRESGVPDRFSGSGSDTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQYYSTPPTFGQGTKVEIK GGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAW NWIRQSPSRGLEWLGRITYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTP EDTAVYYCAGDRRYGIVGLPFAYWGQGLTVTVSS	249
MHGB668-HL	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSNNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYY RSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARYGSGTLLFDY WGQGLTVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS QSVLYSSKNKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSDTDFTLTIS SLQAEDVAVYYCQYYSTFPYTFGQGTKLEIK	250
MHGB668-LH	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSKNKNYLAWYQKPGQPPKLLIYW ASTRESGVPDRFSGSGSDTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYYSTFPYTFGQGTKLEI KGGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAA WNWIRQSPSRGLEWLGRITYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSV TPEdTAVYYCARYGSGTLLFDYWGQGLTVTVSS	251
MHGB669-HL	QVQLQQSGPGLVRPSQTLVSTCAISGDSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGRITYR	252

	SEWFNDY AVSVKSRVTINPDTSKNQLSLQLNSVIPEDTAVYYCAREARIGVAGKGF DYWGQGLTVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLFRSNNKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYCQYYSTPRTFGQGTKVEIK	
MHGB669-LH	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFRSNNKNYLAWYQKPGQPPKLLIYW ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYYSTPRTFGQGTKVEIK GGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQSGPGLVRPSQTL SVTCAISGDSVSSNSASWN WIRQSPSRGLEWLGRTYRSEWFNDY AVSVKSRVTINPDTSKNQLSLQLNSVIPED TAVYYCAREARIGVAGKGFYWGQGLTVTVSS	253
MHGB672-HL	QVQLQSGPGLVKPSQTL SLTCAISGDSVSSNRAAWN WIRQTPSRGLEWLGRTYR RSEWYNDY AVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARVRAAVPFDY WGQGLTVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS QSVLFRSNNKNYLAWYQKPGQPPNLLIYWASTRESGVPDRFSGSVSGTDFTLTISS LQAEDVAIYYCQYHSTPWFQGTKVEIK	254
MHGB672-LH	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFRSNNKNYLAWYQKPGQPPNLLIYW ASTRESGVPDRFSGSVSGTDFTLTISSLQAEDVAIYYCQYHSTPWFQGTKVEIK GGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQSGPGLVKPSQTL SLTCAISGDSVSSNRAAW NWIRQTPSRGLEWLGRTYRSEWYNDY AVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTP EDTAVYYCARVRAAVPFDYWGQGLTVTVSS	255
MHGB687-HL	QLQLQESGPGLVKPSETLSLMCTVSGGSITSSYYWGWRQPPGKGLEWIGNIYYSG TTYYNPSLKRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAAGARDFDSWGQGLS LTVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYS SSNKSYLAWYQQRPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV AVYYCQYYSTPRMYTFQGTKLEIK	256
MHGB687-LH	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSSNKSYLAWYQQRPGQPPKLLIYW ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYYSTPRMYTFQGTKL EIKGGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLMCTVSGGSITSSYY WGWRQPPGKGLEWIGNIYYSGTTYYNPSLKRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAAD TAVYYCAAGARDFDSWGQGLTVTVSS	257
MHGB688-HL	EVQLLESGPGLVKPSQTL SLTCVISGDSVSSNRAAWN WIRQSPSRGLEWLGRTYR SKWYNDY AVSVKSRITINSDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVRPGIPFDYWG QGTPVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQS VLFSSNKKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQ AEDVAVYYCQYNSPWFQGTKVEIK	258
MHGB688-LH	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFRSNNKNYLAWYQKPGQPPKLLIYW ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYNSPWFQGTKVEI KGGSEKSSGSGSESKSTGGSEVQLLESGPGLVKPSQTL SLTCVISGDSVSSNRAAW NWIRQSPSRGLEWLGRTYR SKWYNDY AVSVKSRITINSDTSKNQISLQLNSVTP EDTAVYYCARVRPGIPFDYWGQGTPTVTVSS	259
MHGB689-HL	QVQLQSGPGLVKPSQTL SLTCVISGDSVSSNRAAWN WIRQSPSRGLEWLGRTYR RSKWYNDY AVSVKSRITINSDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVRPGIPFDYWG GQGTPTVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPDSLAVSLGERATINCESSQ SVLFRSNNKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINR LQAEDVAVYYCQYNSPWFQGTKVEIK	260
MHGB689-LH	DIQMTQSPDSLAVSLGERATINCESSQSVLFRSNNKNYLAWYQKPGQPPKLLIYW ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINRLQAEDVAVYYCQYNSPWFQGTKVEI KGGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQSGPGLVKPSQTL SLTCVISGDSVSSNRAA WNWIRQSPSRGLEWLGRTYR SKWYNDY AVSVKSRITINSDTSKNQISLQLNSVTP EDTAVYYCARVRPGIPFDYWGQGTPTVTVSS	261
MHGB694-HL	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLDWVSGISGSG FSTYYVDSVKGRFTISRDN SKHTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDNLVAGTVFDY WGQGLTVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRAS QSISWLA WYQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDFA TYCQYNSYSLTFGGGTKVDIK	262
MHGB694-LH	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITITCRASQSISWLA WYQKPGKAPKLLIYKASSLESG VPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDFA TYCQYNSYSLTFGGGTKVDIKGGSEKSS SGSGSESKSTGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMHWVRQAPG KGLDWVSGISGSGFSTYYVDSVKGRFTISRDN SKHTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA KDNLVAGTVFDYWGQGLTVTVSS	263
MHGB732-HL	QVQLQSGPGLVKPSQTL SLTCAISGDSVSSNSAAWN WIRQSPSRGLEWLGRTYR SKWYNDY AVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCAGDRRYGIVGLPF AYWGQGLTVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLHSSNNKNYLTFWQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYCHQYYSTPPTFGQGTKVEIK	264
MHGB732-LH	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLHSSNNKNYLTFWQKPGQPPKLLIYW ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQYYSTPPTFGQGTKVEIK	265

	GGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWKYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCAGDRRYGIVGLPFAYWGQGLVTVSS	
MHGB737-HL	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISGSGFSTYYVDSVKGRFTISRDNNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAKDNLVAGTVFDYWGQGLVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISWLAWYQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFGSGSGTEFTLTISSLQPDFATYYCQQYNSYSLTFGGGTKVDIK	266
MHGB737-LH	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISWLAWYQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFGSGSGTEFTLTISSLQPDFATYYCQQYNSYSLTFGGGTKVDIKGGSEKSSGSGSESKSTGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISGSGFSTYYVDSVKGRFTISRDNNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAKDNLVAGTVFDYWGQGLVTVSS	267
MHGB738-HL	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNRAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWKYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVRPGIPFDYWGGQTPVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFGSGVSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYHSTPWFQGTGKVEIK	268
MHGB738-LH	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFGSGVSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYHSTPWFQGTGKVEIKGGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNRAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWKYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVRPGIPFDYWGGQTPVTVSS	269

**Таблица 18. Аминокислотные последовательности scFv-Fcs.**

Сокращение	Аминокислотная последовательность scFv	SEQ ID NO:
MHGB665-HL-Fc	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWKYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCAGDRRYGIVGLPFAYWGQGLVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLHSSNNKNYLTWFQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQYYSTPPTFGQGTGKVEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK	270
MHGB665-LH-Fc	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLHSSNNKNYLTWFQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQYYSTPPTFGQGTGKVEIKGGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWKYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCAGDRRYGIVGLPFAYWGQGLVTVSSSPEKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK	271
MHGB668-HL-Fc	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWKYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARYGSGTLLFDYWGQGLVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSKNKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTFPYTFGQGTGKLEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK	272
MHGB668-LH-Fc	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSKNKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTFPYTFGQGTGKLEIKGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWKYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARYGSGTLLFDYWGQGLVTVSSSPEKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK	273
MHGB669-HL-Fc	QVQLQQSGPGLVRPSQTLVSTCAISGDSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWKYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVIPEDTAVYYCAREARIGVAGKGFYD	274

	WGQGLTVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFRSNNKNYLAWFQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDITLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	
MHGB669-LH-Fc	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFRSNNKNYLAWFQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQSGPGLVRPSQTL SVTCAISGDSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSEWFNDYAVSVKSRVTINPDT SKNQLSLQLNSVIPEDTAVYYCAREARIGVAGKGFYWGQGLTVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDITLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	275
MHGB672-HL-Fc	QVQLQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSSNRAAWN WIRQTPSRGLEWLGRTYYRS EWYNDYAVSVKSRITINPDT SKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARVRAAVPFDYWGQGLTVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFRSNNKNYLAWYQQKPGQPPNLLIYWASTRESGVPDRFSGSVSGTDFTLTISSLQAEDVAIYYCQQYHSTPWTFGQGTKVEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDITLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	276
MHGB672-LH-Fc	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFRSNNKNYLAWYQQKPGQPPNLLIYWASTRESGVPDRFSGSVSGTDFTLTISSLQAEDVAIYYCQQYHSTPWTFGQGTKVEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSSNRAAWN WIRQTPSRGLEWLGRTYYRSEWYNDYAVSVKSRITINPDT SKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARVRAAVPFDYWGQGLTVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDITLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	277
MHGB687-HL-Fc	QLQLQESGPGLVKPSETLSLMCTVSGGSITSSSYWGWIRQPPGKLEWIGNIYSGTTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAAGARDFDSWGQGLVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSSNKSYLAWYQQRPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRMYTFGQGTKLEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDITLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	278
MHGB687-LH-Fc	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSSNKSYLAWYQQRPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRMYTFGQGTKLEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSQLQLQESGPGLVKPSETLSLMCTVSGGSITSSSYWGWIRQPPGKLEWIGNIYSGTTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAAGARDFDSWGQGLVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDITLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	279
MHGB688-HL-Fc	EVQLLESQPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSSNRAAWN WIRQSPSRGLEWLGRTYYRS KWYNDYAVSVKSRITINS DTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVRPGIPFDYWGQTPVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFRSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAIYYCQQYNSTPWTFGQGTKVEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDITLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	280
MHGB688-LH-Fc	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFRSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYNSTPWTFGQGTKVEIKGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEVQLLESQPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSSNRAAWN WIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINS DTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVRPGIPFDYWGQTPVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDITLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV	281

	LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
MHGB689-HL-Fc	QVQLQSGPGLVKPSQTLSTCVISGDSVSSNRAAWNWRQSPSRGLEWLGRTRYRSKWNNDYAVSVKSRITINSDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVRPPIPFDYWGQTTVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPDSLAVSLGERATINCESSQSVLFSNKKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINRLQAEDVAVYYCQYNSPTWTFGQGTKVEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK	282
MHGB689-LH-Fc	DIQMTQSPDSLAVSLGERATINCESSQSVLFSNKKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTINRLQAEDVAVYYCQYNSPTWTFGQGTKVEIKGGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCVISGDSVSSNRAAWNWRQSPSRGLEWLGRTRYRSKWNNDYAVSVKSRITINSDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVRPPIPFDYWGQTTVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK	283
MHGB694-HL-Fc	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLDWSGISGSGFSTYYVDSVKGRFTISRDNKHTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDNLVAGTVFDYWGQGTLLTVVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQKPGKAPKLLIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLPDDFATYYCQYNSYSLTFGGGKVDIKEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK	284
MHGB694-LH-Fc	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQKPGKAPKLLIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLPDDFATYYCQYNSYSLTFGGGKVDIKEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK	285
MHGB732-HL-Fc	QVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWRQSPSRGLEWLGRTRYRSKWNNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCAGDRRYGIVGLPFAYWGQGTLLTVVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLHSSNNKNYLTWFQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLPQAEDVAVYYCHQYYSTPPTFGQGTKVEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK	286
MHGB732-LH-Fc	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLHSSNNKNYLTWFQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLPQAEDVAVYYCHQYYSTPPTFGQGTKVEIKGGSEKSSGSGSESKSTGGSQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWRQSPSRGLEWLGRTRYRSKWNNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCAGDRRYGIVGLPFAYWGQGTLLTVVSSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK	287
MHGB737-HL-Fc	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLDWSGISGSGFSTYYVDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDNLVAGTVFDYWGQGTLLTVVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQKPGKAPKLLIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLPDDFATYYCQYNSYSLTFGGGKVDIKEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK	288
MHGB737-LH-Fc	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQKPGKAPKLLIYKASSLESQV	289



		AGAGGGCCACCATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGCTGTACAGCAGCAAGAACAAG AACTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCCGGCCAGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTGG GCCAGCACAAGGGAAAGCGGCGTGCCCGACAGATTACAGCGGAAGCGGCAGCGCCAGCCGA CTTACCCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCGAGGATGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCA GTACTACAGCACCTTCCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG
MHGB668- LH	295	GACATCGTGATGACCCAGAGCCCCGATAGCCTGGCTGTGAGCCTGGGAGAGAGGGCCACC ATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGCTGTACAGCAGCAAGAACAAGAACTACCTGGC CTGGTACCAGCAGAAACCCGGCCAGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACAAG GGAAAGCGGCGTGCCCGACAGATTACAGCGGAAGCGGCAGCGGCACCGACTTACCCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGATGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACTACAGCA CCTTCCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGCCGGATCTGAGGGAA AGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCCAGGTGCAGCTGCAG CAGAGCGGACCCGGCCTGGTAAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCGCCATCAGC GGCGACAGCGTGAGCAACAACAGCGCCGCCTGGAAGTGGATCAGGCAGAGCCCCAGCAG AGGCCTGGAATGGCTGGGCAGGACCTACTACAGGAGCAAGTGGTACAACGACTACGCCG TGAGCGTGAAGAGCAGGATCACCATCAACCCCGACACCTCCAAGAACCAGTTCAGCCTGC AGCTGAACAGCGTGACCCCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTATGGCAGCG GCACCCTGCTGTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACAGTGAGCAGC
MHGB669- HL	296	CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGACCCGGACTGGTGAGACCCAGCCAGACCCTGAGCGT GACCTGCGCCATCAGCGGCGACAGCGTGAGCAGCAACAGCGCCAGCTGGAAGTGGATCA GGCAGAGCCCCAGCAGAGGCCTGGAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGAGCGAGTGG TTCAACGACTACGCCGTGAGCGTGAAGAGCAGGGTGACCATCAACCCCGACACCAGCAA GAACCAGCTGAGCCTGCAGCTGAACAGCGTGATCCCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTG CGCCAGAGAGGGCCAGAATCGGCGTGGCCGGCAAAGGCTTCGACTACTGGGGCCAGGGCA CCCTGGTGACAGTGTCCAGCGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAA AGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGACATCGTGATGACCCAGAGCCCTGACTCCCTGGCTGTG AGCTGGGCGAGAGAGCCACCATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGTGTTTCAGGAG CAACAACAAGAAGTACTGCTGGCTGGTTCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCTCCCAAGCTGCT GATCTACTGGGCCAGCACCAGAGAGAGCGGCGTGCCCGATAGATTTAGCGGCAGCGGCA GCGGCACCGACTTTACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGGCCGAGGATGTGGCCGTGTACT ACTGCCAGCAGTACTACAGCACCCCCAGAACCCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCA AG
MHGB669- LH	297	GACATCGTGATGACCCAGAGCCCTGACTCCCTGGCTGTGAGCCTGGGCGAGAGAGCCACC ATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGCTGTTTCAGGAGCAACAACAAGAAGTACTGCTGGC CTGGTTCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCTCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAG AGAGAGCGGCGTGCCCGATAGATTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTTACCCTGAC CATCAGTCCCTGCAGGCCGAGGATGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACTACAGCAC CCCCAGAACCCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGGGCGGATCTGAGGGAAAGT CCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCCAGGTGCAGCTGCAGCAG AGCGGACCCGGACTGGTGAGACCCAGCCAGACCCTGAGCGTGACCTGCGCCATCAGCGGC ACAGCGTGAGCAGCAACAGCGCCAGCTGGAAGTGGATCAGGACAGAGCCCCAGCAGAGG CCTGGAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGAGCGAGTGGTTCAACGACTACGCCGTGA GCGTGAAGAGCAGGGTGACCATCAACCCCGACACCAGCAAGAACCAGCTGAGCCTGCAG CTGAACAGCGTGATCCCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGAGGCCAGAATC GGCGTGGCCGGCAAAGGCTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACAGTGTCCAGC
MHGB672- HL	298	CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGACCTGGCCTGGTGAAGCCAGCCAGACCCTGAGCCTG ACATGCGCCATCAGCGGCGACAGCGTGAGCAGCAATAGGGCCGCTGGAAGTGGATCAG GCAGACCCCTAGCAGGGGCTGGAATGGCTGGGCAGGACATACTACAGGAGCGAGTGGT ACAACGACTACGCCGTGTCCGTGAAGAGCAGGATCACCATCAACCCCGACCCAGCAAG AACCAGTTCAGCCTGCAGCTGAACAGCGTGACCCCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGC GCCAGAGTGAGAGCCGCGTGCCTTTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACAGTG AGCAGCGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGG CGGAAGCGACATCGTGATGACCCAGAGCCCCGATAGCCTGGCTGTGAGCCTGGGCGAGA GGGCCACCATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGCTGTTTTCCAGCAACAACAAGAAGT ACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCCGGCCAGCCCCAACCTGCTGATCTACTGGGCCA GCACCAGAGAAAGCGGCGTGCCCGACAGGTTTTCAGCGCAGCGTGAGCGGCACCGACTTC ACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCATCTACTACTGCCAGCAGTAC CACAGCACCCCTGGACATTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAG
MHGB672- LH	299	GACATCGTGATGACCCAGAGCCCCGATAGCCTGGCTGTGAGCCTGGGCGAGAGGGCCACC ATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGCTGTTTTCCAGCAACAACAAGAAGTACTGCTGGC TGGTACCAGCAGAAACCCGGCCAGCCCCCAACCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGA GAAAGCGGCGTGCCCGACAGTTCAGCGGCAGCGTGAGCGGCACCGACTTACCCTGACC ATCAGCAGCCTGCAGCCGAGGACGTGGCCATCTACTACTGCCAGCAGTACCAGCAGCACC CCCTGGACATTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGGGCGGATCTGAGGGAAAGTC CAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGA GCGGACCTGGCCTGGTGAAGCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACATGCGCCATCAGCGGGC ACAGCGTGAGCAGCAATAGGGCCGCTGGAAGTGGATCAGGCAGACCCCTAGCAGGGGC

		CTGGAATGGCTGGGCAGGACATACTACAGGAGCGAGTGGTACAACGACTACGCCGTGTCC GTGAAGAGCAGGATCACCATCAACCCCGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGCAGCTG AACAGCGTGACCCCCGACACCCCGTGTACTACTGCGCCAGAGTGAGAGCCGCCGTG CCTTTCGACTACTGGGGGACAGGGCACCCCTGGTACTACAGTGAGCAGC
MHGB687- HL	300	CAGCTGCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGACTGGTGAAGCCCAGCGAGACCCTGAGCCT GATGTGCACCGTGAGCGGGCGCAGCATCACCAGCAGCAGCTACTACTGGGGATGGATCAG ACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCAACATCTACTACAGCGGCACCACCTA CTACAACCCAGCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGT TCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCTGCCGACACCCGCGTGTACTACTGTGCCGCCG GAGCCAGAGACTTCGACAGCTGGGGACAGGGCAGCCTGGTGACCGTGTCCAGCGGGCGGA TCTGAGGGAAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGACAT CGTGATGACCCAGAGCCCTGATAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGAGAGAGAGCCACCATCAA CTGCAAGTCTCCAGAGCGTGCTGTACAGCTCCAGCAACAAGAGCTACCTGGCCTGGTA CCAGCAGAGGCCCGGACAGCCTCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGAGAGA GCGGCGTGCCTGACAGGTTTAGCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTTACCCTGACCATCA GCAGCCTGCAGGCCGAGGATGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACTACAGCACCCCA GGATGTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG
MHGB687- LH	301	GACATCGTGATGACCCAGAGCCCTGATAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGAGAGAGGCCACC ATCAACTGCAAGTCTCCAGAGCGTGTGTACAGCTCCAGCAACAAGAGCTACCTGGCC TGGTACCAGCAGAGGGCCCGACAGCCTCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGA GAGAGCGGCGTGCCTGACAGGTTTAGCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTTACCCTGACC ATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGATGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACTACAGCACC CCCAGGATGTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGCGGATCTGAGGG AAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCCAGCTGCAGCTGC AGGAGAGCGGCCCTGGACTGGTGAAGCCCAGCGAGACCCTGAGCCTGATGTGCACCGTG AGCGGCGGACAGCATCACCAGCAGCAGTACTACTGGGGATGGATCAGACAGCCCCCTGGC AAGGCCTGGAGTGGATCGGCAACATCTACTACAGCGGCACCACCTACTACAACCCAGC CTGAAGAGCAGGGTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCT GAGCAGCGTGACAGCTGCCGACACCCCGTGTACTACTGTGCCGCCGGAGCCAGAGACTT CGACAGCTGGGGACAGGGCAGCCTGGTACCCTGTCCAGC
MHGB688- HL	302	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCACTC ACCTGTGTCATCTCCGGGGACAGTGTCTCTAGCAACAGAGCTGCTTGGAACTGGATCAGG CAGTCCCATCGAGAGGCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCAAGTGGTAT AATGATTATGCAGTATCTGTGAAAAGTCAATAACCATCAATTACAGACATCCAAGAAC CAGATCTCCCTGCAGTTGAACTCTGTGACTCCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCAA GAGTGAGACCGGGGATCCCATTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCGGTCACCGTCTCCT CAGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGA AGCGACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTTGGGCGAGAGGGCC ACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTAGCTCCAACAAGAAAGAACTACTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCCCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACC CGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTGAGGCAAGATTTACTCTC ACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAAGTGTGGCAGTTTATTACTGTGAGCAATATAATAGT ACTCCGTGGACGTTCCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA
MHGB688- LH	303	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACC ATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTAGCTCCAACAAGAAAGAACTACTTAGCTT GGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCCCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGG AATCCGGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTACTCTCACCA TCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAATATAATAGTACTCC GTGGACGTTCCGGCAAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCA GCGGCTCCGGCAGCGAAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGAGGTGCAGCTGTTGGAGTCA GGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCACTCACCTGTGTCATCTCCGGGGAC AGTGTCTTAGCAACAGAGCTGCTTGGAACTGGATCAGGCAGTCCCATCGAGAGGCCTT GAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCAAGTGGTATAATGATTATGCAGTATCTGTG AAAAGTCAATAACCATCAATTAGACACATCCAAGAACCAGATCTCCCTGCAGTTGAAC TCTGTGACTCCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCAAGAGTGAGACCGGGGATCCCA TTTGACTACTGGGGCCAGGAAACCCCGTCAACCGTCTCCTCA
MHGB689- HL	304	CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCACTC ACCTGTGTCATCTCCGGGGACAGTGTCTCTAGCAACAGAGCTGCCTGGAACTGGATCAGG CAGTCCCATCGAGAGGCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCAAGTGGTAT AATGATTATGCAGTTTCTGTGAAAAGTCAATAACCATCAATTACAGACACATCCAAGAAC CAGATCTCCCTGCAGTTGAACTCTGTGACTCCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCAA GAGTGAGACCGGGGATCCCTTTTACTACTGGGGCCAGGGAACCCAGGTCACCGTCTCCT CAGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGA AGCGACATCCAGATGACCAAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTTGGGCGAGAGGGCC ACCATCAACTGCGAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTAGCTCCAACAAGAAAGAACTACTTA GCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCCCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACC CGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTACTCTC

		ACCATCAACCGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAATATAATAGT ACTCCGTGGACGTTCCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA
MHGB689- LH	305	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACC ATCAACTGCGAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTACAGTCCAACAAAAGAAGTACTTACTAGCTT GGTACCAGCAGAAAACAGGACAGCCCTTAAGTGTCTCATTACTGGGCATCTACCCGGG AATCCGGGGTCCCTGACCGATTGAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTACCA TCAACCGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAATATAATAGTACTCC GTGGACGTTCCGGCAAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAGGCGGATCTGAGGGAAAAGTCCA GCGGCTCCGGCAGCGAAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCCAGGTACAGCTGCAGCAGTCA GGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCACTCACCTGTGTCTATCTCCGGGGAC AGTGTCTCTAGCAACAGAGCTGCCTGGAAGTGGATCAGGCAGTCCCATCGAGAGGCCTT GAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCAAGTGGTATAATGATTATGCAAGTTCTGTG AAAAGTCAATAACCATCAATTGAGACACATCCAAGAACCAGATCTCCCTGCAAGTTGAA TCTGTGACTCCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCAAGAGTGAGACCGGGGATCCCT TTTGACTACTGGGGCCAGGGAACACCGTACCCGTCTCCTCA
MHGB694- HL	306	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTC TCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCC CAGGGAAGGGGCTGGACTGGGTCTCAGGTATTAGTGGTAGTGGCTTTAGCACATACTATG TAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGCACACGCTGTATC TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGATAATT TAGTGGCTGGTACCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTACCCGTCTCCTCAGG CGGATCTGAGGGAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCG ACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTACCAT CACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTTGGCTGGTATCAGCAGAAAACCAGG GAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATAAGGCGTCTAGTTTAGAAAGTGGGGTCCCATCAAG GTTACGCGCAGTGGATCTGGGACAGAATCACTCTACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGA TGATTTTGAACCTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTATTCGCTCACTTTCGGCGGAGGG ACCAAGGTGGATATCAAA
MHGB694- LH	307	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCA TCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAAACCAG GGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATAAGGCGTCTAGTTTAGAAAGTGGGGTCCCATCAA GGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATCACTCTACCATCAGCAGCCTGCAGCCTG ATGATTTTGAACCTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTATTCGCTCACTTTCGGCGGAGG GACCAAGGTGGATATCAAAGGCGGATCTGAGGGAAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAA GCAAGTCCACCGGCGGAAGCGAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGCACTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGGAAGGGGCTGGACTGGGTCTCAGGTATTAGTGGTA GTGGCTTTAGCACATACTATGTAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACA ATTCCAAGCACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTAT ATTACTGTGCGAAAGATAATTTAGTGGCTGGTACCGTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAA CCCTGGTACCCGTCTCCTCA
MHGB732- HL	308	CAAGTACAACCTGCAACAAGGTGGTCTGGGCTCGTGAAGCCTTCCCAGACTCTCAGCCTC ACATGCGCTATAAGTGGGGATTCTGTTTCTCAAATTCAGCAGCCTGGAATTGGATACGAC AGTCTCCATCCCGTGGCCTTGGTGGCTTGGTAGAACTTATTACCGATCCAAGTGGTACAA TGATTACGCCGTTTCAGTGAAGTCCCGCATTACTATTAATCCCGACACATCTAAGAATCAA ATTTCAATTGCAACTGAATAGCGTAACACCCGAAGATACAGCAGTTTATTATTGTGCAGGTG ATCGACGCTACGGCATAAGTGGGACTTCTTTTCGCTATTGGGGCCAAGGGACACTGGTCA CTGTGTCTCCGGCGGATCTGAGGGAAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAAGCAAGTCCA CCGGCGAAGCGACATCGTAATGACACAGTCAACAGATTATTGGCAGTTAGTCTGGGTG AAAGGGCAACAATCAACTGCAAGTCTTCTCAGAGTGTACTGCATAGTTCTAACAAATAAGA ACTACCTTACCTGGTTTCAACAGAAAACAGGTGACCCCCCAAGTTGCTGATTTACTGGGC AAGCACCCGCAATCCGGCGTTCCTGATCGATTTTCAAGTTCGGGAGTGGGACCGACTT TACCTTGACCATCTCTTCTTGCAGGCCGAAGATGTAGCCGTCTATTACTGCCATCAGTAT TACTCTACTCCCCCACATTCGGTCAAGGTACAAAAGTTGAGATAAAA
MHGB732- LH	309	GACATCGTAATGACACAGTCAACAGATTTCATGGCAGTTAGTCTGGGTGAAAGGGCAACA ATCAACTGCAAGTCTTCTCAGAGTGTACTGCATAGTTCTAACAAATAAGAAGTACTTACCT GGTTTCAACAGAAAACAGGTGAGCCCCCAAGTTGCTGATTTACTGGGCAAGCACCCCGG AATCCGGCGTTCCCGATCGATTTTCAAGTTCGGGAGTGGGACCGACTTTACCTTGACCAT CTCTTCTTGCAGGCCGAAGATGTAGCCGTCTATTACTGCCATCAGTATTACTCTACTCCC CCCACATTCGGTCAAGGTACAAAAGTTGAGATAAAAAGGCGGATCTGAGGGAAAAGTCCAG CGGCTCCGGCAGCGAAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCCAAGTACAACCTGCAACAAAAGT GTCTTGGCTCGTGAAGCCTTCCCAGACTCTCAGCCTCACATGCGCTATAAGTGGGGATT TGTTTCTCAAATTCAGCAGCCTGGAATTGGATACGACAGTCTCCATCCCGTGGCCTTGG TGGCTTGGTAGAACTTATTACCGATCCAAGTGGTACAATGATTACGCCGTTTCAAGTGAAGT CCCGCATTACTATTAATCCCGACACATCTAAGAATCAAATTTCAATTGCAACTGAATAGCGT AACACCCGAAGATACAGCAGTTTATTATTGTGCAAGGTGATCGACGCTACGGCATAGTGG ACTTCTTTCGCTATTGGGGCCAAGGGACACTGGTCACTGTGTATCC

MHGB737-HL	310	GAGGTGCAACTCCTTGAATCAGGCGGAGGACTCGTCCAACCTGGAGGGAGTCTTAGGCTT AGCTGTGCAGCCAGTGGCTTTACTTTTAGCAGCTATGCAATGCACTGGGTGAGGCAGGCTC CTGGTAAGGGGCTCGAATGGGTGAGCGGCATATCCGGGTGAGGTTTCTACATATTATGT CGATTCTGTAAAAGGACGATTACCATATCCAGAGACAATTTAAAAATACCTTGTATCTC CAGATGAACAGCCTGAGAGCAGAAGATACCGCAGTTTATTACTGTGCAAAGGTAATCTG GTTGCCGGGACAGTTTTTATTATTGGGGGCAAGGCACCCCTGTCACAGTATCCAGTGGC GGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGA TATTCAGATGACTCAATCACCTTCAACCCCTTAGCGCCTCCGTTGGAGATCGCGTTACCATT ACCTGCCGAGCCTCCCAAAGTATCAGCTCATGGTTGGCATGGTATCAACAGAAGCCTGGA AAGGCACCCAAACTTCTGATTTACAAAGCCAGCTCCTTGGAGTCAGGAGTCCCAAGCCGG TTCAGCGGATCTGGGTGAGGACAGAATTTACCCTGACCATATCTTCCCTCAGCCCGACG ACTTCGCCACTTACTATTGTCAGCAATACAACCTCCTATTCCCTGACTTTCGGCGGTGGCAC AAAGGTTGACATCAAG
MHGB737-LH	311	GATATTCAGATGACTCAATCACCTTCAACCCCTTAGCGCCTCCGTTGGAGATCGCGTTACCA TTACCTGCCGAGCCTCCCAAAGTATCAGCTCATGGTTGGCATGGTATCAACAGAAGCCTG GAAAGGCACCCAAACTTCTGATTTACAAAGCCAGCTCCTTGGAGTCAGGAGTCCCAAGCC GGTTCAGCGGATCTGGGTGAGGACAGAATTTACCCTGACCATATCTTCCCTCAGCCCGA CGACTTCGCCACTTACTATTGTCAGCAATACAACCTCCTATTCCCTGACTTTCGGCGGTGGC ACAAAGGTTGACATCAAGGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAG CAAGTCCACCGGCGGAAGCGAGGTGCAACTCCTTGAATCAGGCGGAGGACTCGTCCAACC TGGAGGGAGTCTTAGGCTTAGCTGTGCAGCCAGTGGCTTTACTTTTAGCAGCTATGCAATG CACTGGGTGAGGACAGGCTCCTGGTAAGGGGCTCGAATGGGTGAGCGGCATATCCGGGTCA GGTTTCTCTACATATTATGTGCTGATTCTGTAAAAGGACGATTACCATATCCAGAGACAATT CTAAAAATACCTTGTATCTCCAGATGAACAGCCTGAGAGCAGAAGATACCGCAGTTTATT ACTGTGCAAAGGATAATCTGGTTGCCGGGACAGTTTTTATTATTGGGGGCAAGGCACCC TCGTCACAGTATCCAGT
MHGB738-HL	312	CAGGTGCAGCTTCAACAGAGCGGACCTGGTCTGGTTAAGCCTTCCCAAACCTGAGCCTG ACTTGTGCTATTTCCGGGGATAGTGTTAGCTCCAATAGGGCAGCATGGAAGTGGATCAGA CAGTCCCAAGCCGTGGACTTGAGTGGCTTGGACGTACTTATTACAGGAGTAAATGGTAC AATGATTATGCCGTTTCTGTGAAGAGCCGTATTACTATAAACCCAGATACTTCTAAAAATC AAATTTCCCTTCAGCTCAACTCAGTTACACCAGAGGATACTGCAGTCTATTATTGCGCAAG AGTTCGACCTGGCATTCCCTTCGATTATTGGGGGACAGGGGACACCCGTTACTGTGTCTCA GGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGCGGAAG CGATATTGTTATGACACAGTCCCCAGATTCAATGGCAGTAAGCCTCGGTGAACGGGCTACT ATTAAGTGAAGTCTTCCAGAGTGTATTGTTCTTCAAATAACAAAAACTACCTGGCAT GGTATCAGCAAAGCCTGGTCAACCCCTAAACTTCTCATATACTGGGCATCCACTCGGG AGAGCGGTGTGCCAGACCGTTTCTCAGGGAGTGTGTCAGGTACAGATTTTACACTCACAA TTTCCAGCCTCCAAGCCGAAGACGTTGCAGTATATTATTGCCAACAAATATCACTCTACACC TTGGACATTTGGTCAAGGTAAGTCAAAAGTCAAAATCAAA
MHGB738-LH	313	GATATTGTTATGACACAGTCCCCAGATTCAATGGCAGTAAGCCTCGGTGAACGGGCTACT ATTAAGTGAAGTCTTCCAGAGTGTATTGTTCTTCAAATAACAAAAACTACCTGGCAT GGTATCAGCAAAGCCTGGTCAACCCCTAAACTTCTCATATACTGGGCATCCACTCGGG AGAGCGGTGTGCCAGACCGTTTCTCAGGGAGTGTGTCAGGTACAGATTTTACACTCACAA TTTCCAGCCTCCAAGCCGAAGACGTTGCAGTATATTATTGCCAACAAATATCACTCTACACC TTGGACATTTGGTCAAGGTAAGTCAAAAGTCAAAATCAAAAGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAG CGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCCAGGTGCAGCTTCAACAGAGCG GACCTGGTCTGGTTAAGCCTTCCCAAACCTGAGCCTGACTTGTGCTATTTCGGGGATAG TGTTAGTCCAATAGGGCAGCATGGAATGGATCAGACAGTCCCAAGCCGTGGACTTGA TGGCTTGGACGTACTTATTACAGGAGTAAATGGTACAATGATTATGCCGTTTCTGTGAAG AGCCGTATTACTATAAACCCAGATACTTCTAAAAATCAAATTTCCCTTCAGCTCAACTCAG TTACACCAGAGGATACTGCAGTCTATTATTGCGCAAGAGTTTCGACCTGGCATTCCCTTCGA TTATTGGGGGACAGGGGACACCCGTTACTGTGTCTCA
MHGB665-HL-Fc	314	CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGCCCTGGACTGGTGAAGCCAGCCAGACCCTGAGCCTG ACCTGCGCTATCAGCGGCATAGCGTGAGCTCCAACAGCGCCGCTGGAAGTGGATCAGG CAGAGCCCTAGCAGGGGCTGGAATGGCTGGGCAGGACCTACTACAGGAGCAAGTGGTA CAACGACTACGCCGTGTCCGTGAAGAGCAGGATACCATCAACCCCGACACCAGCAAGA ACCAGATCAGCCTGCAGCTGAACAGCGTGACCCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCG CCGGCGACAGAAGGTACGGCATCGTGGGCCTGCCTTTCGCTACTGGGGCCAGGGAACCC TGGTGACCGTGTGAGCAGCGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGC AAGTCCACCGGCGGAAGCGACATCGTATGACCCAGAGCCCCGATAGCCTGGCTGTGAGC CTGGGCGAGAGAGCCACCATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGTGCACAGCAGCAA CAACAAGAATACTACCTGACCTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCCAGCCTCCCAAGCTGCTGAT CTACTGGGCTAGCACCAGAGAGTCCGGCTGCCTGACAGGTTGACGCGGAAGCGGACCG GCACCGACTTCAACCTGACCATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACT GCCACCAGTACTACAGCACCCCCCTACCTTTGGCCAGGGACCAAGGTGGAGATCAAGG AGCCCAAATCTAGCGACAAAATCACACTTGTCCACCGTCCCAGCACCTGAAGCAGCAG GGGACCGTCACTTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC

		CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT ACAACAGCACGTACCCTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGTGAATG GCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAATC ATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACGTGCTGCCCCATCCCCG GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGCTGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAACAACACTACCTCACCTGGCC TCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGTCC AGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGTCTCTCCTGTCTCCGGGAAAA
MHGB665- LH-Fc	315	GACATCGTGATGACCCAGAGCCCCGATAGCCTGGCTGTGAGCCTGGGCGAGAGAGCCACC ATCAACTGCAAGAGCAGCCAGCAGCGTGTGCACAGCAGCAACAACAAGAACTACCTGAC CTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCCAGCCTCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCTAGCACCAG AGAGTCCGGCGTGCCTGACAGGTTACGCGGAAGCGGCAGCGCACCGACTTACCCTGAC CATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCACCAGTACTACAGCAC CCCCCTACCTTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGGGCGGATCTGAGGGAAAAGTC CAGCGGCTCCGGCAGCGAAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGA CGGCCCTGGACTGGTGAAGCCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCGCTATCAGCGGGC ATAGCGTGAGCTCCAACAGCGCCGCTGGAATCGGATCAGGCAGAGCCCTAGCAGGGGC CTGGAATGGCTGGGCAGGACCTACTACAGGAGCAAGTGGTACAACGACTACGCCGTGTCC GTGAAGAGCAGGATCACCATCAACCCCGACACCAGCAAGAACCAGATCAGCCTGCAGCT GAACAGCGTGACCCCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCGGCGACAGAAGGTACG GCATCGTGGGCTGCCTTTGCCTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTGACCGTGAGCAGCga gccccaaactagcagaaaaactcacactgtccaccgtgccagcacctgaagcagcagggggaccgtcagcttctcttcccccaaaacccaa ggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtgagcgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactgtacgtgga cgcggtgaggtgcataatccaagacaaagccggggaggagcagtaaacagcagctaccgtgtggtcagcgtctcaccgtctcaccagc gactggctgaatggcaaggagtacaagtccaaggtgtccaacaagccctcccagccccatcgagaaaaacctccaagccaaggcgagc cccgagaaccacaggtgtacgtgctgccccatcccgggagagatgaccaagaaccaggtcagcctgctgctgctgcaaaagcctctatccca cgacatc gccgtgagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactaccctacctggcctcccgtgctgactccgacggctcttctctct acagcaagctcaccgtggacaagtcagatggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcaacaaccactacagcaga agtctctcccctgtctccgggaaaa
MHGB668- HL-Fc	316	CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGACCCGGCCTGGTGA AACCCAGCCAGACCCTGAGCCT GACCTGCGCCATCAGCGGCAGCAGCGTGAGCAACAACAGCGCCGCTGGAAGTGGATCA GGCAGAGCCCCAGCAGAGCCTGGAATGGCTGGGACAGCCTACTACAGGAGCAAGTGG TACAACGACTACGCCGTGAGCGTGAAGAGCAGGATCACCATCAACCCCGACACCTCCAAG AACCAGTTCAGCCTGCAGCTGAACAGCGTGACCCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGC GCCAGGTATGGCAGCGGCACCCTGCTGTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACA GTGAGCAGCGCGGATCTGAGGGAAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAAGCAAGTCCAC CGCGGAAGCGACATCGTGATGACCCAGAGCCCCGATAGCCTGGCTGTGAGCCTGGGAG AGAGGGCCACCATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGTGTACAGCAGCAAGAACAAG AACTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCCGCCAGCCCCCAAGCTGATCTACTGG GCCAGCACAAGGGAAAAGCGGCGTGCCCGACAGATTACGCGGAAGCGGCAGCGGCACCGA CTTACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGATGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCA GTACTACAGCACCTTCCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGgagcccaa atctagcagaaaaactcacactgtccaccgtgccagcacctgaagcagcagggggaccgtcagcttctcttcccccaaaacccaaggacac cctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtgagcgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactgtacgtgagcggcgt ggaggtgcataatccaagacaaagccggggaggagcagtaaacagcagctaccgtgtggtcagcgtctcaccgtctcaccagcagctgg tgaatggcaaggagtacaagtccaaggtgtccaacaagccctcccagccccatcgagaaaaacctccaagccaaggcgagccccgag aaccacaggtgtacgtgctgccccatcccgggagagatgaccaagaaccaggtcagcctgctgctgctgcaaaagcctctatccacgcaga tcgccgtgagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactaccctacctggcctcccgtgctgactccgacggctcttctctctacagca agctcaccgtggacaagtcagatggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcaacaaccactacagcagaagctct ctcccgtctccgggaaaa
MHGB668- LH-Fc	317	GACATCGTGATGACCCAGAGCCCCGATAGCCTGGCTGTGAGCCTGGGAGAGAGGGCCACC ATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGTGTACAGCAGCAAGAACAAGAACTACCTGGC CTGGTACCAGCAGAAAACCCGGCCAGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTGGCCAGCACAAG GGAAAAGCGGCGTGGCCGACAGATTACGCGGAAGCGGCAGCGCACCGACTTACCCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGATGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACTACAGCA CCTTCCCCTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGCGGATCTGAGGGAA AGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCCAGGTGCAGCTGCAG CAGAGCGGACCCGGCCTGGTGA AACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCGCCATCAGC GGCGACAGCGTGAGCAACAACAGCGCCGCTGGA ACTGGATCAGGCAGAGCCCCAGCAG AGGCCGTGAATGGCTGGGCAGGACCTACTACAGGAGCAAGTGGTACAACGACTACGCCG TGAGCGTGAAGAGCAGGATCACCATCAACCCCGACACCTCCAAGAACCAGTCTAGCCTGC AGCTGAACAGCGTGACCCCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTATGGCAGCG GCACCCTGCTGTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGAGCAGCgagcccaaatc agcagaaaaactcacactgtccaccgtgccagcacctgaagcagcagggggaccgtcagcttctcttcccccaaaacccaaggacaccctc atgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtgagcgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactgtacgtgagcggcgtgga

		<p>ggtgcataatccaagacaagccgcgggaggagcagtaacaacagcacgtaccgtgtgtgagcagcgtcctaccgtcctgcaccaggactggtgata  atggcaaggagtagcaaggtgccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaagccaagggcagccccgagaacc  acaggtgtacgtgctcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtcagcctgtgtgctgtgcaaaaggtcttatcccagcgacategc  ctggaggtgggagagcaatggcgagccggagaacaactacctcactggcctcccgtgtgactccgacggctcttctctctacagcaagct  caccgtggacaagtccagatggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgagaagctctctcc  ctgtcccgggaaaa</p>
MHGB669- HL-Fc	318	<p>CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGACCCGGACTGGTGTGAGACCAGCCAGACCCTGAGCGT  GACCTGCGCCATCAGCGGCGACAGCGTGTGAGCAGCAACAGCGCCAGCTGGAAGTGGATCA  GGCAGAGCCCCAGCAGAGGCTGGAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGAGCGAGTGG  TTCAACGACTACGCCGTGAGCGTGAAGAGCAGGGTACCATCAACCCCGACACCAGCAA  GAACAGCTGAGCCTGCAGCTGAACAGCGTGTATCCCCGAGGACACCCTGTACTACTG  CCAGAGAGGCCAGAATCGGCGTGGCCGGCAAAGGCTTCGACTACTGGGGCCAGGGCA  CCCTGGTGACAGTGTCCAGCGGGGATCTGAGGGAAAAGTCCAGCGCTCCGGCAGCGAA  AGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGACATCGTGATGACCCAGAGCCCTGACTCCCTGGCTGTG  AGCCTGGGCGAGAGAGCCACCATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGTGTTCAAGGAG  CAACAACAAGAACTACCTGGCCTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCTCCCAAGCTGCT  GATCTACTGGGCCAGCACCAGAGAGAGCGGCGTGGCCGATAGATTTAGCGGCAGCGGCA  CGGCACCGACTTTACCCTGACCATCAGTCCCTGCAGGCCAGGATGTGGCTGTGACT  ACTGCCAGCAGTACTACAGCACCCTGAACTTCGGCCAGGCCACCAAGCTGGCCAGGCA  AGGCTGGATCA  AGgagcccaaatctagcgacaaaactacactgtccaccgtgccagcactgaagcagcaggggaccgtcagctctctctcccccaaaa  cccaaggacacctcatgatctcccggacctgaggtcacatgctgtgtgtgagcgtgagccacgaagacctgaggtcaagtcaactggtac  gtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaagccgcgggaggagcagtaacaacagcagcgtaccgtgtgtgagcgtcctaccgtctgc  accaggactggtgaatggcaaggagtacaagtgaaggtgtccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaagccaagg  gcagccccgagaaccacaggtgtacgtgtgctccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtcagcctgtgtgctgtgcaaaagcttct  atcccagcgacatcgccgtggaggtggagagcaatggcgagccggagaacaactacctcactggcctcccgtgtgactccgagcgctctct  ttctctacagcaagctcaccgtggacaagtcagatggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacac  gcagaagctctctcccctgtcccgggaaaa</p>
MHGB669- LH-Fc	319	<p>GACATCGTGATGACCCAGAGCCCTGACTCCCTGGCTGTGAGCCTGGGCGAGAGAGCCACC  ATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGTGTTCAAGGAGCAACAACAAGAACTACCTGGC  CTGTTCCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCTCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAG  AGAGAGCGGCGTGGCCGATAGATTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTTACCCTGAC  CATCAGTCCCTGCAGGCCGAGGATGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACTACAGCAC  CCCCAGAACCCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGGGCGGATCTGAGGGAAAAGT  CCAGCGCTCCGGCAGCGAAAAGCAAGTCCACCGCGGAAGCCAGGTGTCAGCTGCAGCAG  AGCGGACCCGGACTGGTGAGACCCAGCCAGACCCTGAGCGTGACCTGCGCCATCAGCGGC  GACAGCGTGAGCAGCAACAGCGCCAGCTGGAAGTGGATCAGGCAGAGCCCCAGCAGAGG  CCTGGAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGAGCGAGTGGTTCAACGACTACGCCGTGA  GCGTGAAGAGCAGGGTGACCATCAACCCCGACACCAGCAAGAACCAGCTGAGCCTGCAG  CTGAACAGCGTGATCCCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGAGCCGAGAATC  GGCGTGGCCGGCAAAGGCTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACAGTGTCCAGC  gagcccaaatctagcgacaaaactacactgtccaccgtgccagcactgaagcagcaggggaccgtcagctctctctcccccaaaaacc  aaggacacctcatgatctcccggacctgaggtcacatgctgtgtgtgagcgtgagccacgaagacctgaggtcaagtcaactggtacgtg  gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaagccgcgggaggagcagtaacaacagcagcgtaccgtgtgtgagcgtcctaccgtctgcacc  aggactggtgaatggcaaggagtacaagtgaaggtgtccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaagccaagggca  gccccgagaaccacaggtgtacgtgtgctccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtcagcctgtgtgctgtgcaaaagcttctatcc  cagcgacatcgccgtggaggtggagagcaatggcgagccggagaacaactacctcactggcctcccgtgtgactccgagcgctctctctct  ctacagcaagctcaccgtggacaagtcagatggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgca  aagctctctcccctgtcccgggaaaa</p>
MHGB672- HL-Fc	320	<p>CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGACCTGGCCTGGTGAAGCCAGCCAGACCCTGAGCCTG  ACATGCGCCATCAGCGGCGACAGCGTGTGAGCAGCAATAGGGCCGCTGGAAGTGGATCAG  GCAGACCCCTAGCAGGGGCTGGAATGGCTGGGCAGGACATACTACAGGAGCGAGTGGT  ACAACGACTACGCCGTGTCCGTGAAGAGCAGGATCACCATCAACCCCGACACCAGCAAG  AACCAGTTCAGCCTGCAGCTGAACAGCGTGACCCCGAGGACACCCTGGTGTACTACTGC  GCCAGAGTGAGAGCCGCCGTGCCTTTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGTGACAGT  AGCAGCGGCGGATCTGAGGGAAAAGTCCAGCGCTCCGGCAGCGAAAAGCAAGTCCACCG  CGAAAGCGACATCGTGATGACCCAGAGCCCGATAGCCTGGCTGTGACCTGGCCGAGAG  GGGCCACCATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGTGTTTTCCAGCAACAACAAGAACT  ACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCCGGCCAGCCCCCAACCTGCTGATCTACTGGGCCA  GCACCAGAGAAAAGCGGCGTGGCCGACAGGTTTAGCGGCAGCGTGTGAGCGGCACCGACTTC  ACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCATCTACTACTGCCAGCAGTAC  CACAGCACCCCTGGACATTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAAGgagcccaaatctagcgac  aaaactacactgtccaccgtgccagcactgaagcagcaggggaccgtcagctctctctcccccaaaaacc  aaggacacctcatgatctcccggacctgaggtcacatgctgtgtgtgagcgtgagccacgaagacctgaggtcaagtcaactggtacgtg  gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaagccgcgggaggagcagtaacaacagcagcgtaccgtgtgtgagcgtcctaccgtctgcacc  aatgccaagacaagcccgggaggagcagtaacaacagcagcgtaccgtgtgtgagcgtcctaccgtctgaccagactggctgaatggga  aggagtacaagtgaaggtgtccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaagccaaggcagccccgagaaccacaggt  gtacgtgtgctccccatcccgggaggagatgaccaagaaccagggtcagcctgtgtgctgtgcaaaaggtcttatcccagcgacatcgccgtgga  gtgggagagcaatggcgagccggagaacaactacctcactggcctcccgtgtgactccgacggctctctctctacagcaagctcaccgt</p>

		ggacaagtccagatggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagtctctctccctgtctc cgggaaaa
MHGB672- LH-Fc	321	GACATCGTGATGACCCAGAGCCCGATAGCCTGGCTGTGAGCCTGGGCGAGAGGGCCACC ATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGGTGCTGTTTTCCAGCAACAACAAGAACTACCTGGCC TGGTACCAGCAGAAACCCGGCAGCCCCCAACCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGA GAAAGCGGCGTGCCCGACAGGTTTAGCGGCAGCGTGAGCGGCACCGACTTCACCCTGACC ATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCATCTACTACTGCCAGCAGTACCACAGCACC CCCTGGACATTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGGGCGGATCTGAGGGAAAGTC CAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGAAAGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGA GCGGACCTGGCCTGGTGAAGCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACATGCGCCATCAGCGGGC ACAGCGTGAGCAGCAATAGGGCCGCTGGAATGGATCAGGCAGACCCTAGCAGGGGGC CTGGAATGGCTGGGCAGGACATACTACAGGAGCGAGTGGTACAACGACTACGCCGTGTCC GTGAAGAGCAGGATCACCATCAACCCCGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGCAGCTG AACAGCGTGACCCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGTGAGAGCCGCCGTG CCTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGAGCAGCgagcccaaatctagcgacaaaact cacactgtccaccgtgccagcacctgaagcagcaggggaccgtcagcttctcttcccccaaaaccaaggacacctcatgatctcccggg ccctgaggtcacatgctgtgtgagcgtgagccacgaagaccctgaggtcaagtcaactggtacgtggacggcgtggaggtgataatgcc aagacaagccgaggagagcagtaacaacagcagctaccgtgtgtcagcgtctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggagt acaagtgaaggtgtccaacaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcaaaagcgaagggcagccccgagaaccacaggtgtacgt gtgcccccatccgggagagatgaccaagaaccaggtcagcctgtgtgctgtcaaaaggcttctatccagcgacctggtgaggtggg agagcaatggcgagccggagaacaactacctcaccctggcctcccgtgctggactccgacggctcctctctctacagcaagctcaccgtgaca agtccagatggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagtctctctccctgtctccggg aaa
MHGB687- HL-Fc	322	CAGCTGCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGACTGGTGAAGCCAGCGAGACCCTGAGCCT GATGTGCACCGTGAGCGGGCGGCAGCATCACAGCAGCAGTACTACTGGGGATGGATCAG ACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCAACATCTACTACAGCGGCCACCACATA CTACAACCCAGCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCAGCGTGAGACACAGCAAGAACCAGT TCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCTGCCGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCGCCG GAGCCAGAGACTTCGACAGCTGGGGACAGGGCAGCCTGGTGACCCTGTCCAGCGGGCGGA TCTGAGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGCGGAAGCGACAT CGTGATGACCCAGAGCCCTGATAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGAGAGAGAGCCACCATCAA CTGCAAGTCTCCAGAGCGTGCTGTACAGCTCCAGCAACAAGAGTACCTGGCCTGGTA CCAGCAGAGGCCCGGACAGCCTCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCGACACCAGAGAGA GCGCGGTGCCGTGACAGGTTTAGCGGCTCCGGCACCAGACTTTACCCTGACCATCA GCAGCCTGCAGGCCGAGGATGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACTACAGCACCCCA GGATGTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGgagcccaaatctagcgacaaaactcacact tgtccaccgtgccagcacctgaagcagcaggggaccgtcagcttctcttcccccaaaaccaaggacacctcatgatctcccggaccct gaggtcacatgctgtgtgagcgtgagccacgaagaccctgaggtcaagtcaactggtacgtggacggcgtggaggtgataatgccaagac aaagccgaggagagcagtaacaacagcagctaccgtgtgtcagcgtcctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaag tgcaaggtgtccaacaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcaaaagcgaagggcagccccgagaaccacaggtgtacgtgctgc ccccatccgggagagatgaccaagaaccaggtcagcctgtgtgctgtcaaaaggcttctatccagcgacatcgccgtggaggtgggagagc aatgggagccggagaacaactacctcaccctggcctcccgtgtgactccgacggctcctctctctacagcaagctcaccgtggaaggtcca gatggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagtctctctccctgtctccgggaaaa
MHGB687- LH-Fc	323	GACATCGTGATGACCCAGAGCCCTGATAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGAGAGAGAGCCACC ATCAACTGCAAGTCTCCAGAGCGTGCTGTACAGCTCCAGCAACAAGAGCTACCTGGCC TGGTACCAGCAGAGGCCCGGACAGCCTCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGA GAGAGCGGCGTGCCGTGACAGGTTTAGCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTTACCCTGACC ATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGATGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACTACAGCACC CCCAGGATGTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGCGGATCTGAGGG AAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCCAGCTGCAGCTGC AGGAGAGCGGCCCTGGACTGGTGAAGCCCAGCGAGACCCTGAGCCTGATGTGCACCGTG AGCGGCGGCAGCATCACCAGCAGCAGTACTACTGGGGATGGATCAGACAGCCCCCTGGC AAGGGCCTGGAGTGGATCGGCAACATCTACTACAGCGGCACCACCTACTACAACCCAGC CTGAAGAGCAGGGTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTTACGCTGAAGCT GAGCAGCGTGACAGCTGCCGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCCGGAGCCAGAGACTT CGACAGCTGGGGACAGGGCACGCTGGTGACCCTGTCCAGCgagcccaaatctagcgacaaaactcacactg tccaccgtgccagcacctgaagcagcaggggaccgtcagcttctcttcccccaaaaccaaggacacctcatgatctcccgaacctga ggtcacatgctgtgtgagcgtgagccacgaagaccctgaggtcaagtcaactggtacgtggacggcgtggaggtgataatgccaagacaa agccgaggagagcagtaacaacagcagctaccgtgtgtcagcgtcctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaag caaggtgtccaacaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcaaaagcgaagggcagccccgagaaccacaggtgtacgtgctgcc ccatcccgggagagatgaccaagaaccaggtcagcctgtgtgctgtcaaaaggcttctatccagcgacatcgccgtggaggtgggagagcaa tggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagtctctctccctgtctccgggaaaa
MHGB688- HL-Fc	324	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCAAGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGACAGCCCTCTACTC ACCTGTGTCATCTCCGGGGACAGTGTCTCTAGCAACAGAGCTGCTTGGAACTGGATCAGG CAGTCCCATCGAGAGGCCTTGAAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCAAGTGGTAT AATGATTATGCAGTATCTGTGAAAAGTCAATAACCATCAATTCAGACACATCCAAGAAC

		<p>CAGATCTCCCTGCAGTTGAACTCTGTGACTCCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCAA  GAGTGAGACCCGGGATCCCAATTTGACTACTGGGGCCAGGGAAACCCCGGTACCCGTCTCT  CAGGCCGATCTGAGGGAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCCGGGGA  AGCGACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTTGGCGAGAGGGCC  ACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTAGCTCCAACAAAAAGAACTACTTA  GCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCCCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACC  CGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTACTCTC  ACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAATATAATAGT  ACTCCGTGGACGTTCCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAGagcccaaatctagcgacaaaactaca  ctgtccaccgtgccagcacctgaagcagcaggggaccgtcagcttctcttcccccaaaaccaaggacacccatgatctccggacc  tgaggtcacatgctggtggtgagcgtgagccacgaagaccctgaggtcaagtcaactgtacgtggagcgtggaggtgcataatgccaaga  caaagccgcgggagagcagtagacaacagcagcgtaccgtgtggtcagcgtcctaccgtctgcaccaggactggctgaatgccaaggagtaca  gtgcaaggtgtccaacaaagccctccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacgtctg  ccccatccgggagagatgaccaagaaccaggtcagcgtctgtgctgtgcaaggtctatccagcgacatcgccgtggagtgaggagag  caatggcagccggagaacaactacctacctggcctcccgtgctggactccgacggctcttctctctacgaagctcaccgtggacaagtc  agatggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagtctctccctgtctccgggaaaa</p>
MHGB688-LH-Fc	325	<p>GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACC  ATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTAGCTCCAACAAAAAGAACTACTTAGCTT  GGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCCCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGG  AATCCGGGGTCCCTGACCGATTAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTACTCTCACCA  TCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAATATAATAGTACTCC  GTGGACGTTCCGGCAAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAGGCGGATCTGAGGGAAAAGTCCA  GCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGAGGTGCAGCTGTTGGAGTCA  GGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCACTCACCTGTGTCATCTCCGGGGAC  AGTGTCTCTAGCAACAGAGCTGCTTGAAGTCCAGGATCAGGCAGTCCCCATCGAGAGGCCTT  GAGTGGCTGGGAAGGCATACACTACAGTCCAAAGTGGTATAATGATTATGCAGTATCTGTG  AAAAGTCAATAACCATCAATTCAGACACATCCAAGAACCAGATCTCCCTGCAGTTGAAC  TCTGTGACTCCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCAAGAGTGAGACCGGGGATCCCA  TTTACTACTGGGGCCAGGGAACCCCGGTACCGTCTCTCAgagcccaaatctagcgacaaaactcacact  tgtccaccgtgccagcacctgaagcagcaggggaccgtcagcttctcttcccccaaaaccaaggacacccatgatctccggaccct  gaggtcacatgctggtggtgagcgtgagccacgaagaccctgaggtcaagtcaactgtacgtggagcgtggaggtgcataatgccaagac  aaagccgcgggagagcagtagacaacagcagcgtaccgtgtggtcagcgtcctaccgtctgcaccaggactggctgaatgccaaggagtaca  tgcaaggtgtccaacaaagccctccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacgtctg  ccccatccgggagagatgaccaagaaccaggtcagcgtctgtgctgtgcaaggtcttctctctacagcagcgtcaccgtggagtgaggagag  aatggcagccggagaacaactacctacctggcctcccgtgctggactccgacggctcttctctctacgaagctcaccgtggacaagtc  gatggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagtctctccctgtctccgggaaaa</p>
MHGB689-HL-Fc	326	<p>CAGGTACAGCTGCAGCAGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGACCCTCTACTC  ACCTGTGTATCTCCGGGGACAGTGTCTTAGCAACAGAGCTGCCTGGAAGTGGATCAGG  CAGTCCCCATCGAGAGGCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCAAGTGGTAT  AATGATTATGCAGTTTCTGTGAAAAGTCAATAACCATCAATTCAGACACATCCAAGAACCAGATCTCCCTGCAGTTGAAC  CAGATCTCCCTGCAGTTGAACTCTGTGACTCCCGAGGACACGGTGTGTATTACTGTGCAA  GAGTGAGACCCGGGATCCCTTTTACTACTGGGGCCAGGGAACCACGGTCAACCGTCTCTCT  CAGGCCGATCTGAGGGAAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGA  AGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCC  ACCATCAACTGCGAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTAGCTCCAACAAAAAGAACTACTTA  GCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCCCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACC  CGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTACTCTC  ACCATCAACCGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTGCAAGTATAATAGT  ACTCCGTGGACGTTCCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAGagcccaaatctagcgacaaaactaca  ctgtccaccgtgccagcacctgaagcagcaggggaccgtcagcttctcttcccccaaaaccaaggacacccatgatctccggacc  tgaggtcacatgctggtggtgagcgtgagccacgaagaccctgaggtcaagtcaactgtacgtggagcgtggaggtgcataatgccaaga  caaagccgcgggagagcagtagacaacagcagcgtaccgtgtggtcagcgtcctaccgtctgcaccaggactggctgaatgccaaggagtaca  gtgcaaggtgtccaacaaagccctccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacgtctg  ccccatccgggagagatgaccaagaaccaggtcagcgtctgtgctgtgcaaggtcttctctctacgaagctcaccgtggacaagtc  caatggcagccggagaacaactacctacctggcctcccgtgctggactccgacggctcttctctctacgaagctcaccgtggacaagtc  agatggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagtctctccctgtctccgggaaaa</p>
MHGB689-LH-Fc	327	<p>GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACC  ATCAACTGCGAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTAGCTCCAACAAAAAGAACTACTTAGCTT  GGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCCCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGG  AATCCGGGGTCCCTGACCGATTAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTACTCTCACCA  TCAACCGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAATATAATAGTACTCC  GTGGACGTTCCGGCAAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAGGCGGATCTGAGGGAAAAGTCCA  GCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGAGGTACAGTGCAGCAGTCA  GGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCACTCACCTGTGTCATCTCCGGGGAC  AGTGTCTCTAGCAACAGAGCTGCTTGAAGTCCAGGATCAGGCAGTCCCCATCGAGAGGCCTT  GAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCAAGTGGTATAATGATTATGCAGTTTCTGTG  AAAAGTCAATAACCATCAATTCAGACACATCCAAGAACCAGATCTCCCTGCAGTTGAAC</p>

		TCTGTGACTCCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCAAGAGTGAGACCGGGGATCCCT TTTACTACTGGGGCCAGGGAACACGGTCACCGTCTCCTCAgagcccaatctagcgacaaaactcacact tgccacegtgccagcacctgaagcagcaggggaccgtcagcttctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccct gaagtcacatcggtggtgagcgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactgtacgtggagcgtgaggtgcataatgccaagac aaagccgaggaggagcaglacaaacagcagctaccgtgtggtcagcgtctcaccgtcctgaccaggaactggctgaatgcaaggagtaacaag tgcaagggtccaacaagccctcccagccccatcgagaaaacctctccaaagccaaggcgagccccgagaaccacaggtgtacgtgctgc ccccatccgggagagatgaccaagaaccaggtcagcctgtgctgctgcaaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagc aatggcgagccggagaacaactacctcacctggcctccgtgctggactccgacggctccttctctctacagcaagctaccgtggacaagtcca gatggcagcaggggaactcttctatgctcctgatgatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagtctctcctctctccgggaaaa
MHGB694- HL-Fc	328	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCTGGGGGGTCCCTGAGACTC TCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGCCTGGGTCGCCAGGCC CAGGGAAGGGGCTGGACTGGGTCTAGGTATTAGTGGTAGTGGCTTTAGCATACTATG TAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGCACACGCTGTATC TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGATAATT TAGTGGCTGGTACCGTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTACCCTCTCCTCAGG CGGATCTGAGGGAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAAGCAAGTCCACCGCGGAAGCG ACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTACCAT CACTTGCCGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTTGGCTGGTATCAGCAGAAAACCAGG GAAAGCCCCTAAGTCTCTGATCTATAAGGGCTCTAGTTTAGAAAAGTGGGCTCCCATCAAG GTTACAGCGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGA TGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTATTCGCTCACTTTCCGGCGGAGGG ACCAAGGTGGATATCAAagcccaatctagcgacaaaactcacactgtccaccgtgccagcacctgaagcagcaggggga ccgtcagcttctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatcgctggtggtgagcgtgagccacgaag accctgaggtcaagtcaactgtacgtgagcgtggtgaggtgcataatgccaagcaaaagccgaggaggagcagtaaacagcacgtaccg tgtgtcagcgtctcaccgtctgaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtgtccaacaagccctcccagccccatcga gaaacctctccaaaagcgaagggcagccccgagaaccacaggtgtacgtgctccccatcccggaggagatgaccaagaaccaggtcag cctgctgtcctgtcaaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatggcgagccggagaacaactacctcacctggcctc cgtgctgactccgagcgtccttctctctacagcaagctaccgtggacaagtccagatggcagcaggggaacgtcttctcatgctcctgatgc atgaggtctgcacaaccactacacgcagaagtctctcctctctccgggaaaa
MHGB694- LH-Fc	329	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTACCA TCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAAACCAG GGAAAGCCCCTAAGTCTCTGATCTATAAGGGCTCTAGTTTAGAAAAGTGGGGTCCCATCAA GGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACCTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTG ATGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTATTCGCTCACTTTCCGGCGGAGG GACCAAGGTGGATATCAAAGGCGGATCTGAGGGAAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAA GCAAGTCCACCGCGGAAGCGAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGCACTGGGTCCGCCAGGCCAGGGAAGGGGCTGGACTGGGTCTCAGGTATTAGTGGTA GTGGCTTTAGCACATACTATGTAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACA ATTCCAAGCACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCAGTCCAGCCGGCTAT ATTACTGTGCGAAAGATAATTTAGTGGCTGGTACCCTGTTTACTGACTGAGGCGGGGAA CCCTGGTCAACCGTCTCCTCAgagcccaatctagcgacaaaactcacactgtccaccgtgccagcacctgaagcagcagggg gaccgtcagcttctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatcgctggtggtgagcgtgagccacga agaccctgaggtcaagtcaactgttacgtgagcggcgtggaggtgcataatgccaagcaaaagccgaggaggagcagtaaacagcacgtac cgtgtgtcagcgtcctcaccgtctgaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtgtccaacaagccctcccagccccatc ggaaaaacctctccaaagcgaagggcagccccgagaaccacaggtgtacgtgctccccatcccggaggagatgaccaagaaccaggtc agcctgctgtcctgtgcaaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatggcgagccggagaacaactacctcacctggcct ccgtgctgactccgagcgtccttctctctacagcaagctaccgtggacaagtccagatggcagcaggggaacgtcttctcatgctcctgat gcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagtctctcctctctccgggaaaa
MHGB732- HL-Fc	330	CAAGTACAACGCAACAAGTGGTCTGGGCTCGTGAAGCCTTCCAGACTCTCAGCCTC ACATGCGCTATAAGTGGGGATTCTGTTTCTCAAATTCAGCAGCCTGGAATTGGATACGAC AGTCTCCATCCCGTGGCCTTGAAGTGGCTTGGTAGAAGTATTACCGATCCAAGTGGTACAA TGATTACGCCGTTTCAAGTGAAGTCCCGCATTACTATTAATCCCGACACATCTAAGAATCAA ATTTCAATTGCAACTGAATAGCGTAACACCCGAAGATACAGCAGTTTATTATTGTGCAGGTG ATCGACGCTACGGCATAAGTGGACTTCTTTCCGCTATTGGGGCAAGGGACACTGGTCA CTGTGTCAATCCGGCGGATCTGAGGGAAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAAGTCCA CCGGCGGAAGCGACATCGTAATGACACAGTACCAGATTCAATTGGCAGTTAGTCTGGGTG AAAGGGCAACAATCAACTGCAAGTCTTCTCAGAGTGTACTGCATAGTTCTAACAATAAGA ACTACCTTACCTGGTTTCAACAGAAACCAGGTCAGCCCCCAAGTTGCTGATTTACTGGGC AAGCACCCGCAATCCGGCGTTCCTGATCGATTTTCAAGTTCCGGGAGTGGGACCGACTT TACCTTGACCATCTCTTCTTGCAGGCCGAAGATGTAGCCGTCTATTACTGCCATCAGTAT TACTCTACTCCCCCACATTCGGTCAAGGTACAAAAGTTGAGATAAAAagcccaatctagcgaca aaactcacactgtccaccgtgccagcacctgaagcagcaggggaccgtcagcttctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctc ccggaccctgaggtcacatcgctggtggtgagcgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactgtgagcggcgtggaggtgcata atgccaagacaagccgaggaggagcagtaaacagcacgtaccgtgtgtcagcgtctcaccgtcctgaccaggactggctgaatggca ggagtacaagtcaaggtgtccaacaagccctcccagccccatcgagaaaacctctccaaagcgaagggcagccccgagaaccacaggtg tacgtgctgccccatcccggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgctgctgctgcaaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtgag



		AATGATTATGCCGTTTCTGTGAAGAGCCGTATTACTATAAAACCCAGATACTTCTAAAAATC AAATTTCCCTTCAGCTCAACTCAGTTACACCAGAGGATACTGCAGTCTATTATTGCGCAAG AGTTCGACCTGGCATTCCCTTCGATTATTGGGGGCAGGGGACACCCGTTACTGTGTCTCA GGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGGGAAG CGATAATTGTTATGACACAGTCCCCAGATTTCATTGGCAGTAAGCCTCGGTGAACGGGCTACT ATTAAGTGAAGTCTTCCCAGAGTGTATTGTTCTTCAAATAACAAAAACTACCTGGCAT GGTATCAGCAAAAGCCTGGTCAACCCCTAAACTTCTCATATACTGGGCATCCACTCGGG AGAGCGGTGTGCCAGACCGTTTCTCAGGGAGTGTGTCAGGTACAGATTTTACACTCACAA TTTCCAGCCTCCAAGCCGAAGACGTTGCAGTATATTATTGCCAACAAATATCACTCTACACC TTGGACATTTGGTCAAGGTAATAAGTCAAAATCAAAGagcccaaatctagcgcacaaaactcacactgtccac cgtgccagcactgaagcagcaggggaccgtcagcttctcttcccccaaaccaaggacacctcatgatctcccggaccctgaggtca catgctgtgtgtgagcgtgagccacgaagacctgaggtcaagtcaactgtgtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagacaagccg cgggaggagcagtaacaacagcagctaccgtgtgtcagcgtccaccctgctgaccaggaactggctgaatggcaaggagtaacagtgcaaggt gtccaacaagccctcccagccccatcgagaaaacctctccaagcgaagggcagccccgagaaccacaggtgtacgtgtgtccccatcc cgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgtgtcctgtgtcaaaaggtctctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggc agccggagaacaactacctacctggcctcccgtgtgtgactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagtcagatggca gcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagctctctccctgtctccgggaaaa
МНGB738- LH-Fc	335	GATATTGTTATGACACAGTCCCCAGATTTCATTGGCAGTAAGCCTCGGTGAACGGGCTACT ATTAAGTGAAGTCTTCCCAGAGTGTATTGTTCTTCAAATAACAAAAACTACCTGGCAT GGTATCAGCAAAAGCCTGGTCAACCCCTAAACTTCTCATATACTGGGCATCCACTCGGG AGAGCGGTGTGCCAGACCGTTTCTCAGGGAGTGTGTCAGGTACAGATTTTACACTCACAA TTTCCAGCCTCCAAGCCGAAGACGTTGCAGTATATTATTGCCAACAAATATCACTCTACACC TTGGACATTTGGTCAAGGTAATAAGTCAAAATCAAAGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAG CGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCCAGGTGCAGCTTCAACAGAGCG GACCTGGTCTGGTAAAGCCTTCCCAAAACCCTGAGCCTGACTTGTGCTAATTTCCGGGGATAG TGTTAGCTCCAATAGGGCAGCATGGAAGTGTGATCAGACAGTCCCCAAGCTTGGACTTGA GTGGCTTGGACGTACTTATTACAGGAGTAAATGGTACAATGATTATGCCGTTTCTGTGAAG AGCCGTATTACTATAAAACCCAGATACTTCTAAAAATCAAATTTCCCTTCAGCTCAACTCAG TTACACCAGAGGATACTGCAGTCTATTATTGCGCAAGAGTTCGACCTGGCATTCCCTTCGA TTATTGGGGGCAGGGGACACCCGTTACTGTGTCTCAgagcccaaatctagcgcacaaaactcacactgtccacc gtgccagcactgaagcagcaggggaccgtcagcttctcttcccccaaaccaaggacacctcatgatctcccggaccctgaggtcac atgctgtgtgtgagcgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactgtgtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagacaagccgc gggaggagcagtaacaacagcagctaccgtgtgtcagcgtcctcaccgtctgaccaggaactggctgaatggcaaggagtaacagtgcaaggtg tccaacaagccctcccagccccatcgagaaaacctctccaagcgaagggcagccccgagaaccacaggtgtacgtgtgtccccatccc gggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgtgtcctgtgtcaaaaggtctctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatggca gccggagaacaactacctacctggcctcccgtgtgtgactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagtcagatggca caggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagctctctccctgtctccgggaaaa

#### Пример 4. Определение биофизических характеристик антител к HLA-G

##### Термостабильность антител к HLA-G

Исходные и оптимизированные по зародышевой линии v-области подвергали скринингу на термостабильность в формате scFv. Вкратце, v-области клонировали в формате scFv и экспрессировали в *E. coli*. Супернатанты культур оценивали с помощью ИФА на их способность связывать рекомбинантный HLA-G. Образцы супернатантов также подвергали тепловому шоку при 55, 60 или 65 °C, и связывание образцов, подвергшихся тепловому шоку, сравнивали со связыванием ненагретых образцов. Этот анализ обеспечил оценку термостабильности v-областей при форматировании в виде scFv. На основе этого анализа МНGB732, МНGB737 и МНGB738, версии МНGB694 and МНGB688 соответственно, оптимизированные для зародышевой линии, были предпочтительными.

На **Фиг. 1** и в **таблице 20** показана способность v-областей связываться с рекомбинантным HLA-G после термообработки при форматировании в виде scFv. V-

области экспрессировали в виде scFv в супернатанте *E. coli* и анализировали на их способность связывать рекомбинантный HLA-G с помощью ИФА. Образцы испытывали при комнатной температуре или после термообработки в течение 10 мин при 55, 60 или 65 °С. B23 представлял собой изотипический контроль.

5

**Таблица 20. Анализ связывания антигена после термообработки v-областями, отформатированными в виде scFv.**

Исходное антитело scFv	Сигнал связывания при комнатной температуре	% сохраненного связывания		
		55 °С	60 °С	65 °С
МНGB665 / МНGB732	15215600	103	122	11
МНGB668		Нет связывания		
МНGB669		Нет связывания		
МНGB672		Нет связывания		
МНGB687		Нет связывания		
МНGB688		Нет связывания		
МНGB689	3073733	2	3	4
МНGB694	3073733	85	9	4
МНGB737 (GL-оптимизированный B694)	2747333	84	80	48
МНGB738 (GL-оптимизированный B688)	5758400	14	2	1

### Специфичность связывания и аффинность

10 V-области в формате mAb IgG1 тестировали на их способность специфически связываться с клетками, экспрессирующими HLA-G, но не другие молекулы МНС класса I (таблица 21). Вкратце,  $1,5 \times 10^7$  клеток промывали 2 раза 1 X PBS, ресуспендировали в 7 мл 1 X PBS и инкубировали в течение 10 мин. После инкубации добавляли 8 мл эмбриональной телячьей сыворотки (FBS), клетки промывали

15 центрифугированием при 300 X g в течение 5 минут и ресуспендировали при  $1 \times 10^6$  клеток/мл в DMEM с добавлением 10% FBS. Затем клетки промывали центрифугированием при 300 X g в течение 5 минут и ресуспендировали в буфере для окрашивания, дополненном козлиным A647 Fc с антителом человека (Jackson, кат. № 109-606-098) и инкубировали в течение 30 мин при 4 °С. После инкубации добавляли

20 150 мкл буфера для окрашивания и клетки промывали центрифугированием при 300 X g в течение 5 мин. Клетки ресуспендировали в 200 мкл рабочего буфера (буфер для окрашивания с добавлением 1 mM EDTA, 0,1% (об./об.) плюроновой кислоты) и промывали центрифугированием при 300 X g в течение 5 мин. Клетки ресуспендировали в 30 мл рабочего буфера и анализировали на связывание антител с

25 помощью проточной цитометрии.

**Таблица 21. Клеточная селективность антител к HLA-G. Сигнал флуоресценции GeoMean говорит о максимальном значении связывания.**

Антитело	HLA-G	HLA-A	HLA-B	HLA-C
МНGB665 / МНGB732 GeoMean	631628	9956	10436	11586
МНGB668 GeoMean	590753	4574	6323	4941
МНGB669 GeoMean	616340	8142	8312	10950
МНGB672 GeoMean	522292	158	4263	2447
МНGB687 GeoMean	527964	28765	22936	35939
МНGB688 GeoMean	481619	2860	6290	2226
МНGB689 GeoMean	536504	2541	5787	266
МНGB694 GeoMean	472613	2874	4853	3974

- 5           Затем  $\nu$ -области испытывали на их способность связывать рекомбинантный HLA-G в виде мАт с применением поверхностного плазмонного резонанса (SPR). SPR представляет собой способ изучения силы взаимодействия между двумя партнерами по связыванию без использования меток путем измерения изменения массы при формировании и диссоциации комплекса. Вкратце, антитела были иммобилизованы на
- 10 сенсорном чипе, который был связан с козлиным Fc с антителом человека. Растворимый внеклеточный домен HLA-G1 (МНGW8) пропускали через иммобилизованное антитело и контролировали реакции ассоциации/диссоциации. Кинетическую информацию (константы скорости ассоциации и диссоциации) экстрагировали путем подбора сенсограмм к модели связывания Ленгмюра в
- 15 соотношении 1:1. Аффинность связывания ( $K_D$ ) регистрировалась как отношение констант скорости ( $k_{\text{диссоциации}}/k_{\text{ассоциации}}$ ). Аффинности антител ( $K_d$ ) варьировались от ~ 77 пМ до 2,6 нМ и показаны в таблице 22.

20 **Таблица 22. Измерения аффинности на основе SPR переменных областей, связывающихся с HLA-G (МНGW8).**

Антитело	$K_a$ (1/Мс)	$K_d$ (1/с)	$K_D$ (М)
МНGB665 / МНGB732	5.18E+05	4.00E-05	7.71E-11
МНGB669	3.15E+05	4.53E-04	1.44E-09
МНGB672	3.25E+06	1.79E-03	5.50E-10
МНGB687	1.89E+05	1.53E-04	8.09E-10
МНGB688	6.58E+05	2.63E-04	4.00E-10

MHGB694	2.08E+06	2.40E-03	1.15E-09
MHGB737	1.996E+5	3.103E-4	2.555E-9
MHGB738	2.03E+10	2.83E+00	1.39E-10

### Пример 5. Блокирование лиганда

HLA-G сверхэкспрессируется на определенных типах опухолей и, таким образом, может служить маркером опухолевых клеток. Кроме того, HLA-G связывается с лигандами ILT2 и ILT4, которые экспрессируются на иммунных эффекторных клетках, таких как НК-клетки<sup>4,5</sup>. Взаимодействие между HLA-G и ILT2/ILT4 приводит к ингибированию активности НК-клеток. Таким образом, предположили, что антитела, которые связываются с HLA-G на конкурентной основе с ILT2/4, будут предотвращать ингибирующее взаимодействие между опухолевыми клетками и НК-клетками и приводить к усилению НК-опосредованного уничтожения опухолевых клеток. Для проверки этой гипотезы сначала проверили, могут ли антитела блокировать взаимодействие между HLA-G и ILT2/4, применяя анализ конкурентного связывания. Связывание между комплексом HLA-G-декстрамер и клетками HEK293T, экзогенно экспрессирующими рецепторы ILT2 или ILT4, приводит к флуоресцентному сигналу. Добавление mAb, которое конкурирует за взаимодействие между HLA-G-декстрамером и клетками ILT-2/4, приводит к уменьшению сигнала флуоресценции. Инверсия ингибирования сигнала флуоресценции была связана с ингибированием mAb, блокирующим лиганд (таблица 22). Вкратце, рекомбинантный биотинилированный HLA-G1 (MHGW8) связывали со стрептавидином APC-декстрамером (Immudex, кат. № DX01-APC) до конечного соотношения приблизительно 4 белка HLA-G1 на молекулу декстрамера. Комплекс декстрамер-HLA-G смешивали с клетками HEK293T, экзогенно экспрессирующими ILT-2, или клетками, экзогенно экспрессирующими ILT-4, и инкубировали в течение 30 мин при 4 °C. Антитела к HLA-G добавляли в каждой концентрации и инкубировали комплексом декстрамер-HLA-G в течение 30 мин при 25 °C. Добавляли клетки (25 000 клеток) и инкубировали в течение 30 мин при 4 °C. После инкубации смесь клеток и комплекс декстрамер-HLA-G промывали центрифугированием и ресуспендировали в 30 мкл подвижного буфера (Thermo BD кат. № 554657). Ресуспендированную смесь анализировали на флуоресцентный сигнал с помощью проточной цитометрии с применением Intellicyt® iQue Screener Plus. Гейтинг проводили сначала на синглетных клетках, затем на живых клетках с применением красителя Blue Dead Cell Sytox™(ThermoFisher), затем на GFP для

клеток, экспрессирующих ILT-2/4, затем на APC для связанного комплекса декстранер-  
 HLA-G. Все антитела, кроме MHGB737, могли ингибировать взаимодействие HLA-G с  
 ILT4, и все антитела, кроме MHGB737 и MHGB687, могли ингибировать  
 взаимодействие с ILT2 (таблица 23). Это свидетельствует о том, что антитела,  
 5 обнаруженные в ходе этой кампании, могут как нацеливаться на опухоли, так и  
 ослаблять иммунное ингибирование опухолевыми клетками.

**Таблица 23. Лигандблокирующие свойства антител**

Антитело	ILT2 EC50 (нМ)	ILT4 EC50 (нМ)
MHGB665	1,62	1,74
MHGB669	1,70	1,59
MHGB672	2,12	1,61
MHGB687	Н/П	1,86
MHGB688	1,72	1,42
MHGB694	0,64	0,20
MHGB732	0,33	0,44
MHGB737	Н/П	Н/П
MHGB738	0,73	0,8

10 **Пример 6. Сопоставление эпитопов**

Затем авторы изобретения задались вопросом, связано ли это ингибирование  
 связывания лиганда с прямой конкуренцией с ILT2/4 за один и тот же сайт связывания  
 на HLA-G. Чтобы проверить эту гипотезу, использовали ЖХ-МС на основе водородно-  
 дейтериевого обмена (описано в примере 9) для идентификации эпитопов на HLA-G  
 15 для ILT-2, ILT-4, MHGB732 или MHGB738 (Фиг. 2). Связывание как Ат MHGB732, так  
 и Ат MHGB738 сильно защищает один и тот же пептид в домене  $\alpha 3$  (аминокислотные  
 остатки 191–198 зрелого белка, последовательность NHPVFDYE (SEQ ID NO: 485)),  
 что приводит к среднему изменению уровней дейтерирования  $> 30\%$ . Этот пептид  
 также был защищен при наличии ILT2 и в меньшей степени при наличии ILT4. Как  
 20 MHGB732, так и MHGB738 антитела также значительно защищали (среднее изменение  
 уровней дейтерирования 10–30%) второй эпитоп, состоящий из остатков 249–251  
 зрелого белка, последовательности VPS. Эпитопы были сопоставлены с  
 кристаллической структурой HLA-G (PDB ID 1YDP)<sup>6</sup>, которая показала, что эпитоп для  
 Ат MHGB732 и Ат MHGB738 и для ILT2/4 находится в проксимальной к мембране  
 25 области домена  $\alpha 3$ .

### Пример 7. Влияние на цитотоксичность на основе НК-клеток

Затем авторы изобретения задались вопросом, может ли ингибирование взаимодействия с HLA-G с помощью ИЛТ-2/4 опосредовать противоопухолевую активность посредством цитотоксичности на основе НК-клеток. Чтобы решить эту проблему, клонировали каждую вариабельную область либо на IgG1, либо на молчащую константную область IgG4-РАА, в которой отсутствует эффекторная функция. Затем испытали способность каждого антитела опосредовать цитотоксичность клеток K562-HLA-G, опосредованную НК-клетками, которые либо экспрессируют Fc-рецепторы (NK-92), либо не содержат Fc-рецепторов (NKL).

Вкратце, клетки K562, сверхэкспрессирующие клетки HLA-G, метили сукцинимидиловым эфиром карбоксифлуоресцеина (CFSE), который служил красителем для пролиферации клеток. Антитела разводили в 96-луночной планшете в соответствии с разведениями, представленными на **Фиг. 3А–8Б**. Клетки K562-HLA-G добавляли в каждую лунку с антителом и инкубировали в течение 1 ч при 4 °С. NKL-клетки добавляли в количестве приблизительно 100 000 клеток на лунку, и смесь инкубировали в присутствии ИЛ2 и NKp46 (для активации NKL-клеток) в течение ночи (NKL-клетки) или 4 ч (клетки NK-92) при 4 °С. Клетки промывали центрифугированием и ресуспендировали в буфере с красителем для выявления живых/мертвых клеток. Смесь ресуспендировали в 130 мкл буфера для окрашивания и анализировали методом проточной цитометрии с применением цитометра FACS Fortessa. Считалось, что антитела, которые могут опосредовать цитотоксичность в отсутствие рецепторов НК, опосредуют это взаимодействие посредством блокирования взаимодействия иммунных контрольных точек между HLA-G и ИЛТ-2/4 (**Фиг. 3А–8Б**). Было обнаружено, что все антитела, которые могут блокировать ИЛТ2 (все антитела, кроме MHGB687), могут усиливать опосредованную клетками NKL цитотоксичность в отношении клеток K562-HLA-G в 24-ч анализе (**Фиг. 3А, 4А, 5А, 6А, 7А, 8А**), тогда как только антитела на основе IgG1 могут усиливать опосредованную Fc-рецептором цитотоксичность. Это свидетельствует о том, что блокирование лиганда может служить важным противоопухолевым механизмом даже в отсутствие эффекторной функции, опосредованной Fc-рецептором.

### Пример 8. Эффекторные функции мАт

Была испытана способность антител дополнительно опосредовать гибель опухолевых клеток за счет антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) в

отношении клеточной линии хориокарциномы JEG-3 (ATCC HTB-36), которая эндогенно экспрессирует HLA-G (Фиг. 9). Антитела добавляли к клеткам JEG-3, меченным красителем BADA (Perkin Elmer, кат. № C136-100), которые могут однонаправленно проникать в клетки. При лизисе клеток краситель высвобождается в раствор, содержащий европий, который вступает в реакцию с красителем с образованием флуоресцентного хелата, сигнал флуоресценции которого можно измерить. РВМС, культивированные в течение ночи, добавляли в соотношении Е:Т 50:1 к клеткам JEG-3 в количестве 5000 клеток/лунку, и смесь инкубировали в течение 4 ч при 37 °С. Смесь клеток добавляли в соотношении 1:10 к раствору европия, инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре и контролировали флуоресценцию при 610 нм для определения сигнала. Сигнал флуоресценции, соответствующий 100% гибели, определяли, используя лунку, содержащую меченные BADA клетки-мишени, смешанные с детергентом Triton-X 100.

Поскольку антитела к HLA-G могут демонстрировать ADCC *in vitro*, авторы изобретения задались вопросом, можно ли усилить эту активность. Несколько исследований показали, что антитела, содержащие менее 10 % концевой фукозилированного Fc, проявляют усиленную эффекторную функцию благодаря более высокой аффинности связывания с Fc-рецепторами<sup>7</sup>. Таким образом, были получены MHGB732 и MHGB738 в хозяине CHO с низким содержанием фукозы для получения антитела с < 10% терминальной фукозы (MHGB738.CLF) (таблица 24, Фиг. 10А–Г). В качестве отрицательного контроля была получена версия MHGB738 с Fc-областью, которая не могла связывать Fc-рецепторы, и этот белок назвали MHGB745.

Антитела с нормальным содержанием фукозы и антитела с низким содержанием фукозы испытывали на их способность индуцировать ADCC на основе NK-клеток либо в отношении клеток JEG-3 (Фиг. 10А), либо в отношении клеток RERF-LC-Ad-1 (линия клеток аденокарциномы легких человека, JCRB1020) (Фиг. 10Б). Антитела с низким содержанием фукозы были получены путем экспрессии конструкций, кодирующих тяжелую цепь и легкую цепь, в клетках CHO, которые естественным образом экспрессируют фермент фукозилтрансферазу на низких уровнях, что приводит к продуцированию антител, содержащих менее 10% коровой фукозы. Отношение эффекторных клеток к клеткам-мишеням показано на графике. Анализ проводили так же, как анализ ADCC, описанный выше. Как MHGB745, так и изотипический контроль не индуцировали ADCC в анализе. Два антитела IgG1, MHGB732 и MHGB738, могли индуцировать ADCC, в то время как те же антитела, имеющие Fc-области с низким

содержанием фукозы, демонстрировали ~ 10-кратное повышение активности ADCC. Это показало, что усиление ADCC может быть достигнуто за счет применения антител с низким содержанием фукозы.

Затем была испытана способность антител опосредовать комплементзависимую цитотоксичность (CDC) (Фиг. 10В и 10Г). Вкратце, анализы проводили в 10% FBS, содержащем DMEM (JEG-3) или RPMI (RERF-LC-Ad-1). К клеткам-мишеням добавляли антитела и инкубировали в течение 30 минут при 37 °С. После инкубации 15–20% (исходная концентрация) кроличьего комплемента (Cedarlane, кат. № CL3441-S) и инактивированный нагревом комплемент добавляли в лунки соответственно в объеме 25 мкл/лунку. Смесь инкубировали в течение 4–12 часов при 37 °С. Лизис клеток-мишеней определяли добавлением 100 мкл CellTitre-Glo (Promega, кат. № G9242) с последующей инкубацией в течение 10 минут при комнатной температуре. Люминесценцию контролировали с помощью микропланшетного фотометра Tecan SPARK®. Два антитела IgG1, MHGB732 и MHGB738, не опосредовали CDC. Поскольку антитела IgG1 не могли опосредовать CDC, были клонированы  $\nu$ -области в Fc IgG1, содержащие мутации K248E, T437R (RE), которые, как было показано, специфически усиливают активность CDC<sup>8</sup>. Эти Ат, имеющие идентичные  $\nu$ -области, что и их аналоги IgG1, могут опосредовать активность CDC. Авторы изобретения задались вопросом, повлияет ли вариант Fc RE на усиление активности ADCC в Ат с низким содержанием фукозы и повлияет ли Fc с низким содержанием фукозы на активность CDC вариантов Fc RE. Антитела RE, полученные в хозяине с низким содержанием фукозы (имеющие < 10% фукозилированного Fc), MHGB752 и MHGB758, имели идентичную активность ADCC, что и антитела IgG1 с низким содержанием фукозы MHGB732 и MHGB738 (Фиг. 10А и 10Б). Аналогично, антитела RE, полученные в организме-хозяине с низким содержанием фукозы, имели идентичную активность CDC, что и антитела RE, продуцируемые в организме-хозяине с нормальным содержанием фукозы (Фиг. 10В и 10Г).

**Таблица 24. Описание вариантов MHGB738, имеющих модифицированные константные области.**

Название белка	Описание
MHGB732	IgG1
MHGB738	IgG1
MHGB745	L234A, L235A, D265S
MHGB752	IgG1, K248E, T437R (RE)
MHGB758	IgG1, K248E, T437R (RE)
MHGB732.CLF	IgG1, низкая фукоза

MHGB738.CLF	IgG1, низкая фукоза
MHGB758.CLF	IgG1, k248E, T437R (RE), низкая фукоза
MHGB758.CLF	IgG1, k248E, T437R (RE), низкая фукоза

## Пример 9. Получение антител к CD3

### Иммунизация

Получение антитела к CD3 CD3B376 и CD3B450 было описано в документе  
 5 US20200048349. Гуманизованная  $\nu$ -область антитела к CD3, представленная в  
 CD3B219, была получена из коммерчески доступного антитела SP 34-2 (BD Biosciences  
 551916).

Дополнительно антитела к CD3 получали с использованием платформы  
 трансгенных мышей линии Ablexis. Мышей линии Ablexis иммунизировали TRCW5  
 10 (SEQ ID NO: 336), включая 13 мышей Карра и 12 мышей Lambda. TRCW5 состоит из  
 внеклеточной области CD3 $\delta$ , слитой 26-аминокислотным линкером с внеклеточной  
 областью CD3 $\epsilon$ , как указано в Kim et al, JMB (2000) 302(4): 899-916. Этот полипептид  
 имел на своем C-конце домен Fc IgG1 человека с C-концевой Avi-меткой,  
 используемой для сайт-специфического биотинилирования (Fairhead & Howarth,  
 15 Methods Mol Biol (2015); 1266: 171–184).

#### TRCW5 (SEQ ID NO: 336):

FKIPIEELEDRVFNVCNTSITWVEGTVGTLLSDITRLDLGKRILDPRGIYRCNGT  
 DIYKDKESTVQVHYRMGSADDAKKAACKDDAKKDDAKKDGSDGNEEMGGITQT  
 PYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQS  
 20 GYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVSPSPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV  
 TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL  
 NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF  
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMH  
 EALHNHYTQKSLSLSPGKGGGLNDIFEAQKIEWHE

25 Мышей иммунизировали два раза в неделю в течение 7 недель. В сутки 42  
 мышей иммунизировали для проведения гибридного слияния путем введения 50 мкг  
 TRCW5 и 50 мкг CD40 мАт в 8 мест, включая 6 подкожных и 2 внутрикожных  
 инъекций. Для конечной иммунизации мышам вводили 20 мкл клеток Jurkat, T-  
 клеточную линию, которая эндогенно экспрессирует рецепторный комплекс T-клеток,  
 30 включая CD3 $\epsilon$  (Schneider et al (1977) Int. J. Cancer, 19 (5): 621-6), при  
 4,74 x 10<sup>7</sup> клеток/мл.

У мышей извлекали лимфатические узлы и селезенки, а слияние проводили по когортам. Клетки лимфатических узлов подсчитывали и объединяли в соотношении 1:1 с клетками FO миеломы (ATCC (CRL-1646) и инкубировали в течение 10 суток при 37 °С перед скринингом антител. Затем супернатанты из слитых клеток гибридомы анализировали с помощью твердофазного ИФА на связывание с TRCW5 с использованием TRCW5, в том числе неспецифически иммобилизованного на планшете (ELISA, Thermo, кат. № 34022), или путем конъюгации стрептавидина с биотинилированным TRCW5 (SPARCL ELISA, Lumigen), в соответствии с инструкциями производителя. Твердофазный ИФА проводили с помощью планшета, покрытого 0,5 мкг/мл TRCW5 и 0,5 мкг/мл HVEM-Fc (R&D, кат. № 365-HV) в течение ночи при 4 °С. Планшеты блокировали добавлением 0,4% (масс./об.) бычьего сывороточного альбумина (БСА) в фосфатно-солевом буфере (PBS) в течение ночи при 4 °С. Планшеты промывали 1 X PBS с добавлением 0,02% (об./об.) Tween 20. В каждую лунку вносили 50 мкл супернатанта гибридомы и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. Связанное антитело обнаруживали путем добавления Fc козьего антитела к мышинному IgG Fc, конъюгированному с пероксидазой хрена (Jackson, кат. № 115-036-071), разводили в соотношении 1:10 000 в блокирующем буфере с последующей инкубацией в течение 30 мин при комнатной температуре. Субстратный буфер 3,3',5',5'-тетраметилбензидин (ТМБ) (Thermo, кат. № 34022) добавляли в количестве 25 мкл/лунку и инкубировали в течение 10 мин в темноте. Реакции останавливали добавлением 4М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> в количестве 25 мкл/лунка. Люминесценцию считывали при 450 нм с помощью микропланшетного фотометра BioTek® Epoch2. Отбирали совпадения, имеющие сигнал по меньшей мере в 3 раза выше, чем фоновый.

Два формата анализа давали 426 совпадений (264 из твердофазного ИФА, 194 из твердофазного ИФА SPARCL, а 70 совпадений были идентифицированы в обоих анализах). Из этих 426 исходных совпадений было подтверждено 49, полученных методом твердофазного ИФА, и 32 полученных методом твердофазного ИФА SPARCL. Гибридные слияния, соответствующие положительным связующим веществам, провели повторно и исследовали их способность связывать клетки Jurkat методом проточной цитометрии. Результаты предполагают, что три антитела, включая клон 003\_F12, клон 036\_E10 и клон 065\_D03, продемонстрировали значительное связывание с клетками Jurkat, эндогенно экспрессирующими CD3, на основании среднего индекса флуоресценции (MFI, см. таблицу 25). Несмотря на подтверждение положительности

клонов 003\_F12 и 036\_E10 (от человека/мышей линии Карра) для легкой цепи человека/мышей линии Карра с помощью твердофазного ИФ, клон 065\_D03 (от человека/мышей линии Lambda) был отрицательным для линии Lambda человека. Затем переменные гены этих трех клонов секвенировали.

5

**Таблица 25. Средний индекс флуоресценции (MFI) для связывания выбранных клонов с клетками Jurkat**

№ клона	MFI (относительные единицы измерения)
003_F12	176147
036_E10	43133
065_D03	136269
Без Ab	2075,61
10 нМ UCNT1	89214,29

Затем эти три клон подвергали скринингу на способность связывать первичные Т-клетки человека и яванского макака. Вкратце, первичные Т-клетки человека и яванского макака повторно суспендировали в количестве  $1 \times 10^6$  клеток/мл в буфере для окрашивания в потоке и клетки высевали в концентрации 50000 клеток/лунку. В каждую лунку добавляли 50 мкл супернатанта гибридомы и смесь инкубировали на льду в течение 30 мин. После инкубации добавляли 200 мкл окрашивающего буфера и клетки осаждали центрифугированием при  $300 \times G$  в течение 5 мин. Мышиное антитело к IgG, конъюгированное с Alexa-647, добавляли в концентрации 2 мкг/мл в буфер для окрашивания общего объема 50 мкл и инкубировали в течение 30 мин на льду. Добавляли 150 мкл окрашивающего буфера, а клетки осаждали центрифугированием при  $300 \times G$  в течение 5 мин. Клетки повторно суспендировали в 30 мкл рабочего буфера, содержащего клетки, разбавленные в соотношении 1:1000 с помощью зеленого красителя для окрашивания мертвых клеток Sytox, и проанализировали на платформе iQue Screener. Клетки гейтировали на FCS/SCS для удаления детрита. Синглеты гейтировали на SCS-A/SCS-H и из популяции синглетов гейтировали и выбирали живые клетки на канале с использованием BL1 канала для низкого-отрицательного зеленого окрашивания Sytox. Связывание CD3 оценивали путем сравнения исследуемых препаратов с отрицательным контролем с помощью геометрического среднего RL1 (Alexa-647). В этом анализе клон 065\_D03 продемонстрировал самый высокий сигнал связывания с клетками (**ФИГ. 11А–11Б**).

Затем переменную область клон 065\_D03 клонировали в каркас IgG1, в результате чего антитело стало называться CD3B815 (последовательности показаны в

30

таблице 26). Проведенный повторный скрининг CD3B815 на связывание с клетками Jurkat продемонстрировал положительное связывание с клетками Jurkat.

**Таблица 26. Аминокислотные последовательности CD3B815.**

Белки	SEQ ID NO:	Аминокислотные последовательности
Тяжелая цепь CD3B815	337	EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGKGLEWV SSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLQMSGLRAEDTAIYYCTR GWGPFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWSNGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKAGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKLSLS PGK
Легкая цепь CD3B815	338	DILLTQSPGILSVSPGERVSFSCRARQSIGTAIHWYQQRNNGSPRLLIKYAS ESISGIPSRFSGSGSGTDFLTINSVESEDIADYYCQQSNSWPYTFGGGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC

5

### Гуманизация и форматирование scFv CD3-связывающих доменов

Легкую цепь (LC) v-области CD3B815 гуманизировали в формате scFv. Вкратце, LC из CD3B815 была привита на зародышевую линию IGHV3-21\*04 человека, и были идентифицированы два положения (Y49K и L78V по Кэботу) обратных мутаций человек-мышь. В результате получили варианты с позициями Y49K или L78 V или как с Y49K, так и с L78V. LC из CD3B815 также содержала мотив NS, который повышает вероятность дезамидирования в положениях 92–93. Таким образом, несколько полученных вариантов также содержали N92G. Эти варианты и связанные с ними мутации описаны в таблице 27, а последовательности аминокислот и нуклеиновых кислот VH и VL представлены в таблицах 28 и 29. Последовательности CDR приведены в таблицах 30–32.

10

15

**Таблица 27. Мутации в гуманизированных вариантах scFv.**

Идентификация scFv	Описание	Мутации VL
CD3W234	CD3B815-HL-scFV, содержит VL мыши	нет
CD3W238	CDR CD3B815, привитая в IGKVID-39*01	нет
CD3W241	CDR CD3B815, привитая в IGKVID-39*01	L78V
CD3W242	CDR CD3B815, привитая в IGKVID-39*01	Y49K
CD3W243	CDR CD3B815, привитая в IGKVID-39*01	Y49K, L78V
CD3W244	CDR CD3B815, привитая в IGKVID-39*01	L78V, N92G
CD3W245	CDR CD3B815, привитая в IGKVID-39*01	Y49K, N92G
CD3W246	CDR CD3B815, привитая в IGKVID-39*01	Y49K, L78V, N92G
CD3W247	CDR CD3B815, привитая в IGKVID-39*01	N92G
CD3W248	CD3B815-HL-scFV, содержит VL мыши	N92G

В **таблице 28** приведены аминокислотные последовательности VH и VL выбранных антител к CD3. В **таблице 29** приведены последовательности ДНК VH и VL выбранных антител к CD3. В **таблице 30** приведены аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3 выбранных антител к CD3 по Кэботу. В **таблице 31** приведены аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3 выбранных антител к CD3 по Кэботу. В **таблице 32** приведены CDR и вариабельные домены антител к CD3. На **Фиг. 13** показано выравнивание области VL CD3B815, CD3W244, CD3W245, CD3W246 и CD3W247.

10

**Таблица 28. Аминокислотные последовательности VH и VL выбранных антител к CD3.**

мАт	Название VH	Последовательность VH	VH с SEQ ID NO:	Название	Последовательность VL	VL с SEQ ID NO:
CD3B815	CD3H488	EVQLVESGGGLVKPGGSL RLSCAASGFTFSRYNMNW VRQAPGKGLEWVSSISTSS NYIYYADSVKGRFTFSRD NAKNSLDLQMSGLRAEDT AIYYCTRGWGPFDYWGQ GTLVTVSS	339	CD3L372	DILLTQSPGILSVSPGERV SFSCRARQSIGTAIHWYQ QRTNGSPRLLIKYASESI SGIPSRFSGSGSGTDFTLT INSVEEDIADYYCQQSN SWPYTFGGGKLEIK	340
CD3W244	CD3H488	EVQLVESGGGLVKPGGSL RLSCAASGFTFSRYNMNW VRQAPGKGLEWVSSISTSS NYIYYADSVKGRFTFSRD NAKNSLDLQMSGLRAEDT AIYYCTRGWGPFDYWGQ GTLVTVSS	339	CD3L394	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRARQSIGTAIHWY QQKPGKAPKLLIYYASE SISGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSVQPEDFATYYCQ QSGSWPYTFGQGTKLEI K	341
CD3W245	CD3H488	EVQLVESGGGLVKPGGSL RLSCAASGFTFSRYNMNW VRQAPGKGLEWVSSISTSS NYIYYADSVKGRFTFSRD NAKNSLDLQMSGLRAEDT AIYYCTRGWGPFDYWGQ GTLVTVSS	339	CD3L395	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRARQSIGTAIHWY QQKPGKAPKLLIYYASE SISGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQ QSGSWPYTFGQGTKLEI K	342
CD3W246	CD3H488	EVQLVESGGGLVKPGGSL RLSCAASGFTFSRYNMNW VRQAPGKGLEWVSSISTSS NYIYYADSVKGRFTFSRD NAKNSLDLQMSGLRAEDT AIYYCTRGWGPFDYWGQ GTLVTVSS	339	CD3L396	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRARQSIGTAIHWY QQKPGKAPKLLIKYASE SISGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSVQPEDFATYYCQ QSGSWPYTFGQGTKLEI K	343
CD3W247	CD3H488	EVQLVESGGGLVKPGGSL RLSCAASGFTFSRYNMNW VRQAPGKGLEWVSSISTSS NYIYYADSVKGRFTFSRD NAKNSLDLQMSGLRAEDT AIYYCTRGWGPFDYWGQ GTLVTVSS	339	CD3L397	DIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRARQSIGTAIHWY QQKPGKAPKLLIYYASE SISGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQ QSGSWPYTFGQGTKLEI K	344
CD3W248	CD3H488	EVQLVESGGGLVKPGGSL RLSCAASGFTFSRYNMNW VRQAPGKGLEWVSSISTSS	339	CD3L398	DILLTQSPGILSVSPGERV SFSCRARQSIGTAIHWYQ QRTNGSPRLLIKYASESI	345

		NYIYYADSVKGRFTFSRD NAKNSLDLQMSGLRAEDT AIYYCTRGWGPFDYWQ GTLVTVSS			SGIPSRFSGSGSDFTLT INSVESEDIADYYCQQSG SWPYTFGGGKLEIK	
CD3B376	CD3H219	QVQLQQSGPRLVLRPSQTL SLTCAISGDSVFNNAAW SWIRQSPSRGLEWLGRY YRSKWLYDYAVSVKSRIT VNPDTSRNQFTLQLNSVTP EDTALYYCARGYSSFDY WGQGLVTVSS	346	CD3L150	QSALTQPASVSGSPGQSI TISCTGTSSNIGTYKFVS WYQQHPDKAPKVLLEYE VSKRPSGVSSRFSGSKSG NTASLTISGLQAEQAD YHCVSYAGSGTLLFGGG TKLTVL	347
CD3B450	CD3H231	QVQLQQSGPGLVKPSQTL SLTCAISGDSVFNNAAW SWIRQSPSRGLEWLGRY YRSKWLYDYAVSVKSRIT INPDTSKNQFSLQLNSVTP EDTAVYYCARGYSSFDY WGQGLVTVSS	348	CD3L197	QSALTQPASVSGSPGQSI TISCTGTSSNIGTYKFVS WYQQHPGKAPKVMIIYE VSKRPSGVSNRFSGSKS GNTASLTISGLQAEDEA DYVCVSYAGSGTLLFGG GTKLTVL	349

**Таблица 29. Последовательности нуклеиновых кислот VH и VL гуманизированных вариантов scFv.**

Название связывающего домена	Нуклеотидная последовательность VH	VH с SEQ ID NO:	Нуклеотидная последовательность VL	VL с SEQ ID NO:
CD3B815	GAGGTGCAACTGGTGGAGTC TGGGGGAGGCCTGGTCAAGC CTGGGGGGTCCCTGAGACTCT CCTGTGCAGCCTCTGGATTCA CCTTCAGTAGATATAACATGA ACTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAGTGGGT CTCATCCATTAGTACTAGTAG TAATTACATATACTACGCAGA CTCAGTGAAGGGCCGATTCA CCTTCTCCAGAGACAACGCCA AGAACTCACTGGATCTGCAA ATGAGCGGCCTGAGAGCCGA GGACACGGCTATTTACTG TACGAGAGGCTGGGGGCCTT TTGACTACTGGGGCCAGGGA ACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	350	GATATACTTCTTACCCAGAGTCC CGGCATCCTCTCCGTTAGCCCTG GGGAGAGAGTCTCATTTCTCATGC CGAGCCAGACAGTCAATTGGTA CCGCAATACACTGGTATCAACAG CGGACCAATGGTTCTCCCGACT TCTGATAAAGTACGCATCAGAAT CAATTAGTGAATACCATCAAG ATTTAGTGGCTCAGGGAGTGGA ACCGATTTACTCTGACCATCAA CTCAGTGAATCTGAGGACATTG CCGACTACTACTGTCAACAAGC AATAGTTGGCCATATACCTTCGG AGGCGGAACTAAATTGGAGATA AAA	351
CD3W244	GAGGTGCAACTGGTGGAGTC TGGGGGAGGCCTGGTCAAGC CTGGGGGGTCCCTGAGACTCT CCTGTGCAGCCTCTGGATTCA CCTTCAGTAGATATAACATGA ACTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAGTGGGT CTCATCCATTAGTACTAGTAG TAATTACATATACTACGCAGA CTCAGTGAAGGGCCGATTCA CCTTCTCCAGAGACAACGCCA AGAACTCACTGGATCTGCAA ATGAGCGGCCTGAGAGCCGA GGACACGGCTATTTACTG TACGAGAGGCTGGGGGCCTT TTGACTACTGGGGCCAGGGA ACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	350	GACATCCAGATGACACAGTCAC CTTCTAGTTTGTCTGCTTCTGTAG GCGACCGTGTAACATACACCTGT CGAGCCCGTCAAAGTATTGGTAC TGCCATTCACTGGTACCAACAAA AACCTGGCAAAGCTCCAAAACCT CTTGATCTACTATGCCTCCGAAA GCATATCAGGGGTCCCAAGCAG ATTCTCAGGCAGTGGCAGTGGA CTGACTTCACTCTCACCATTCT AGCGTGCAACCAGAGGACTTCG CCACTTATTACTGCCAACAGTCA GGGAGCTGGCCCTACACCTTCGG CCAAGGTACAAAACCTGGAGATC AAA	352

Название связывающего домена	Нуклеотидная последовательность VH	VH с SEQ ID NO:	Нуклеотидная последовательность VL	VL с SEQ ID NO:
CD3W245	GAGGTGCAACTGGTGGAGTC TGGGGGAGGCCTGGTCAAGC CTGGGGGGTCCCTGAGACTCT CCTGTGCAGCCTCTGGATTCA CCTTCAGTAGATATAACATGA ACTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAGTGGGT CTCATCCATTAGTACTAGTAG TAATTACATATACTACGCAGA CTCAGTGAAGGGCCGATTCA CCTTCTCCAGAGACAACGCCA AGAACTCACTGGATCTGCAA ATGAGCGGCCTGAGAGCCGA GGACACGGCTATTTACTG TACGAGAGGCTGGGGGCCTT TTGACTACTGGGGCCAGGGA ACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	350	GACATACAAATGACACAATCAC CCTCTTCTTTCTGCAAGCGTTG GCGACCGTGTCACTATCACTTGT CGAGCCCGCCAGTCCATAGGTAC TGCCATTCACTGGTATCAACAGA AGCCTGGCAAGGCTCCCAAATC CTGATTAAGTATGCCAGCGAGA GCATTTCCGGCGTACCTTCAAGA TTTTCCGGCTCCGGTAGTGGGAC AGATTTCACTCTCACTATATCTA GCCTCCAACCAGAAGATTTCCGC ACTTACTACTGTCAACAATCAGG TTCATGGCCTTACACTTTCGGCC AGGGGACAAAATTGGAGATCAA G	353
CD3W246	GAGGTGCAACTGGTGGAGTC TGGGGGAGGCCTGGTCAAGC CTGGGGGGTCCCTGAGACTCT CCTGTGCAGCCTCTGGATTCA CCTTCAGTAGATATAACATGA ACTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAGTGGGT CTCATCCATTAGTACTAGTAG TAATTACATATACTACGCAGA CTCAGTGAAGGGCCGATTCA CCTTCTCCAGAGACAACGCCA AGAACTCACTGGATCTGCAA ATGAGCGGCCTGAGAGCCGA GGACACGGCTATTTACTG TACGAGAGGCTGGGGGCCTT TTGACTACTGGGGCCAGGGA ACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	350	GACATCCAAATGACTCAATCACC TAGCAGCCTCTCCGCCTCCGTTG GAGATAGAGTGACAATAACTTG CCGAGCCCGCAAAGTATCGGA ACTGCTATTCAGTGGTATCAACA AAAACCTGGAAAGGCACCTAAG CTCTTGATTAATAACGCTTCTGA GTCCATCTCCGGCGTGCCTTAC GATTCAGCGGCAGCGGTAGTGG TACTGACTTTACCTCACTATTA GTTCTGTTACAGCCAGGACTTC GCAACTTATTACTGCCAACAGAG TGGTTCCTGGCCATACTTTTG GCCAGGGGACTAAATTGGAAAT CAAA	354
CD3W247	GAGGTGCAACTGGTGGAGTC TGGGGGAGGCCTGGTCAAGC CTGGGGGGTCCCTGAGACTCT CCTGTGCAGCCTCTGGATTCA CCTTCAGTAGATATAACATGA ACTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAGTGGGT CTCATCCATTAGTACTAGTAG TAATTACATATACTACGCAGA CTCAGTGAAGGGCCGATTCA CCTTCTCCAGAGACAACGCCA AGAACTCACTGGATCTGCAA ATGAGCGGCCTGAGAGCCGA GGACACGGCTATTTACTG TACGAGAGGCTGGGGGCCTT TTGACTACTGGGGCCAGGGA ACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	350	GACATCCAAATGACTCAAAGCC CCTCTAGTTTGAGTGCATCTGTA GGTGACCGGGTAACAATCACCT GCCGTGCCCGGCAAAGTATAGG TACTGCAATCCACTGGTACCAGC AAAAACCCGGCAAAGCACCAAA GCTGCTCATATACTATGCTAGTG AGAGCATTTCTGGCGTTCTAGT CGATTTTCTGGATCAGGAGTGG AACTGATTTTACACTGACAATCA GCAGCCTCCAACCCGAAGACTTC GCCACCTACTATTGTCAGCAGTC TGGGTCTGGCCTTACACATTG GTCAAGGAACTAAATTGGAGAT CAAA	355
CD3W248	GAGGTGCAACTGGTGGAGTC TGGGGGAGGCCTGGTCAAGC CTGGGGGGTCCCTGAGACTCT CCTGTGCAGCCTCTGGATTCA CCTTCAGTAGATATAACATGA ACTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAGTGGGT CTCATCCATTAGTACTAGTAG TAATTACATATACTACGCAGA CTCAGTGAAGGGCCGATTCA CCTTCTCCAGAGACAACGCCA AGAACTCACTGGATCTGCAA ATGAGCGGCCTGAGAGCCGA GGACACGGCTATTTACTG TACGAGAGGCTGGGGGCCTT TTGACTACTGGGGCCAGGGA ACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	350	GACATTTTGCTGACACAGAGCCC TGGTATCCTCTCAGTCAGTCCAG GGGAACCGGTTTCATTTAGCTGC CGTGCTCGACAGAGCATTGGGA CCGCAATCCACTGGTACCAACAA AGAACTAACGGTTCACCACGGCT TTTGATTAAGTATGCCCTCCGAAT CCATCAGTGGCATTCTAGTCGT TTTTCTGGATCAGGATCAGGCAC CGACTTTACTCTCACAATTAATA GTGTCGAAAGTGAGGACATTGC AGACTATTATTGTCAGCAATCCG	356

Название связывающего домена	Нуклеотидная последовательность VH	VH с SEQ ID NO:	Нуклеотидная последовательность VL	VL с SEQ ID NO:
	ATGAGCGGCCTGAGAGCCGA GGACACGGCTATTTACTG TACGAGAGGCTGGGGCCTT TTGACTACTGGGGCCAGGGA ACCCTGGTCACCGTCTCCTCA		GTTCTGGCCCTATACTTTTGGT GGTGGTACTAAGTTGGAAATTA A	
CD3B376	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTC TGGCCCTAGACTCGTGC GGCC TTCCCAGACCCTGTCTCTGAC CTGTGCCATCTCCGGCGACTC CGTGTTCACAACAACGCCG CCTGGTCTGGATCCGGCAGA GCCCTTCTAGAGGCCTGGAAT GGCTGGGCCGGACCTACTAC CGGTCCAAGTGGCTGTACGA CTACGCCGTGTCCGTGAAGTC CCGGATCACCGTGAACCCTG ACACCTCCCGGAACCAGTTCA CCCTGCAGCTGAACTCCGTGA CCCCTGAGGACACCGCCCTGT ACTACTGCGCCAGAGGCTACT CCTCCTCCTTCGACTATTGGG GCCAGGGCACCCCTCGTGACC GTGTCTCT	357	AGTCTGCTCTGACCCAGCCTGCC TCCGTGTCTGGCTCTCCCGCCA GTCCATCACCATCAGCTGTACCG GCACCTCCTCCAACATCGGCACC TACAAGTTCGTGTCTGGTATCA GCAGCACCCCGACAAGGCCCCC AAAGTGCTGCTGTACGAGGTGTC CAAGCGGCCCTCTGGCGTGTCT CCAGATTCTCCGGCTCCAAGTCT GGCAACACCGCCTCCCTGACCAT CAGCGGACTGCAGGCTGAGGAC CAGGCCGACTACCACTGTGTGTC CTACGCTGGCTCTGGCACCCCTGC TGTTTGGCGGAGGCACCAAGCTG ACCGTGCTG	358
CD3B450	CAAGTGCAACTCCAACAAG CGGCCCAGGGCTGGTAAAGC CTTCACAGACCCTCTCACTTA CTTGCGCAATATCTGGGGACT CCGTGTTTAATAACAATGCTG CATGGAGCTGGATTCGCCAG AGCCCAAGTCGCGGGCTCGA GTGGCTTGGTTCGAACCTATTA CCGCTCCAAGTGGCTCTATGA CTACGCAGTAAGCGTCAAAT CACGGATAACAATCAACCCT GACACATCCAAGAATCAGTTT AGTCTGCAACTCAACTCAGTC ACCCCTGAGGATACCGCAGT GTATTATTGTGCCAGAGGGTA CAGCTCTTCCTTTGATTACTG GGGCAAGGTACACTGGTAA CAGTATCAAGC	359	CAGTCTGCTCTGACCCAGCCTGC CTCCGTGTCTGGCTCTCCCGGCC AGTCCATCACCATCAGCTGTACC GGCACCTCCTCCAACATCGGCAC CTACAAGTTCGTGTCTGGTATC AGCAGCACCCCGCAAGGCCCC CAAAGTGATGATCTACGAGGTGT CCAAGCGGCCCTCCGGCGTGTCC AACAGATTCTCCGGCTCCAAGTC CGGCAACACCGCCTCCCTGACAA TCAGCGGACTGCAGGCCGAGGA CGAGGCCGACTACTACTGTGTGT CCTACGCCGGCTCTGGCACCCCTG CTGTTTGGCGGCGGAACAAGCT GACCGTGCTG	360

**Таблица 30. Аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3  
выбранных антител к CD3 по Кэботу.**

мАт	HCDR1	SEQ ID NO:	HCDR2	SEQ ID NO:	HCDR3	SEQ ID NO:
CD3B815	RYNMN	361	SISTSSNYIYYADSVKG	362	GWGPFDY	363
CD3W244	RYNMN	361	SISTSSNYIYYADSVKG	362	GWGPFDY	363
CD3W245	RYNMN	361	SISTSSNYIYYADSVKG	362	GWGPFDY	363
CD3W246	RYNMN	361	SISTSSNYIYYADSVKG	362	GWGPFDY	363
CD3W247	RYNMN	361	SISTSSNYIYYADSVKG	362	GWGPFDY	363
CD3W248	RYNMN	361	SISTSSNYIYYADSVKG	362	GWGPFDY	363
CD3B376	NNNAAWS	364	RTYYRSKWLYDYAVSVKS	365	GYSSSFYD	366
CD3B450	NNNAAWS	364	RTYYRSKWLYDYAVSVKS	365	GYSSSFYD	366



		EDTAIYYCTRGWGFDPDYWGQGLTVTVSS	
	VL (CD3L396)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRARQSIGTAIHWYQQKPGKAPK LLIKYASESISGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQQSG SWPYTFGQGTKLEIK	343
CD3BW247	HCDR1	RYNMN	361
	HCDR2	SISTSSNYIYYADSVKG	362
	HCDR3	GWGPFYD	363
	LCDR1	RARQSIGTAIH	367
	LCDR2	YASESIS	368
	LCDR3	QQSGSWPYT	370
	VH (CD3H488)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGK GLEWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRA EDTAIYYCTRGWGFDPDYWGQGLTVTVSS	339
	VL (CD3L397)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRARQSIGTAIHWYQQKPGKAPK LLIYYASESISGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSG SWPYTFGQGTKLEIK	344
CD3BW248	HCDR1	RYNMN	361
	HCDR2	SISTSSNYIYYADSVKG	362
	HCDR3	GWGPFYD	363
	LCDR1	RARQSIGTAIH	367
	LCDR2	YASESIS	368
	LCDR3	QQSGSWPYT	370
	VH (CD3H488)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGK GLEWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRA EDTAIYYCTRGWGFDPDYWGQGLTVTVSS	339
	VL (CD3L398)	DILLTQSPGILSVSPGERVSFSCRARQSIGTAIHWYQQRRTNGSPRL LIKYASESISGIPSRFRSGSGSGTDFTLTINSVESEDIADYYCQQSGS WPYTFGGGGTKLEIK	345
CD3B376	HCDR1	NNNAAWS	364
	HCDR2	RTYYRSKWLYDYAVSVKS	365
	HCDR3	GYSSSFYD	366
	LCDR1	TGTSSNIGTYKFVS	371
	LCDR2	EVSKRPS	372
	LCDR3	VSYAGSGTLL	373
	VH (CD3H219)	QVQLQQSGPRLVRPQSQTLSLTCAISGDSVFNNAAWSWIRQSPSR GLEWLGRTYYRSKWLYDYAVSVKSRITVNPDTSRNQFTLQLNSV TPEDTALYYCARGYSSSFYDYGQGLTVTVSS	346
	VL (CD3L150)	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSNIGTYKFVSWYQQHPDKAP KVLLYEVSQRPSGVSSRFRSGSKSGNTASLTISGLQAEDQADYHCV SYAGSGTLLFGGGTKLTVL	347
CD3B450	HCDR1	NNNAAWS	364
	HCDR2	RTYYRSKWLYDYAVSVKS	365
	HCDR3	GYSSSFYD	366
	LCDR1	TGTSSNIGTYKFVS	371
	LCDR2	EVSKRPS	372
	LCDR3	VSYAGSGTLL	373
	VH (CD3H231)	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVFNNAAWSWIRQSPSR GLEWLGRTYYRSKWLYDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSV TPEDTAVYYCARGYSSSFYDYGQGLTVTVSS	348
	VL (CD3L197)	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSNIGTYKFVSWYQQHPGKAP KVMIEVSKRPSGVSNRFRSGSKSGNTASLTISGLQAEDQADYHCV SYAGSGTLLFGGGTKLTVL	349

### Консенсусная последовательность

На **ФИГ. 13** показано выравнивание областей VL CD3B815, CD3W244, CD3W245, CD3W246 и CD3W247. Консенсусную аминокислотную последовательность с **SEQ ID NO: 374** определяли для области VL, остатки HCDR и LCDR подчеркнуты.

**SEQ ID NO: 374**

DIQX<sub>1</sub>TQSPX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>LSX<sub>4</sub>SX<sub>5</sub>GX<sub>6</sub>RVX<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>CRARQSIGTAINHWYQQKX<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>PX<sub>14</sub>LL  
IX<sub>15</sub>YASESISGX<sub>16</sub>PSRFSGSGSGTDFTLTIX<sub>17</sub>SX<sub>18</sub>QX<sub>19</sub>EDX<sub>20</sub>AX<sub>21</sub>YYCQQSX<sub>22</sub>SWPYT  
FGX<sub>23</sub>GTKLEIK

где X<sub>1</sub> представляет собой L или M; X<sub>2</sub> представляет собой G или S; X<sub>3</sub> представляет  
5 собой I или S; X<sub>4</sub> представляет собой V или A; X<sub>5</sub> представляет собой P или V; X<sub>6</sub>  
представляет собой E или D; X<sub>7</sub> представляет собой S или T; X<sub>8</sub> представляет собой F  
или I; X<sub>9</sub> представляет собой S или T; X<sub>10</sub> представляет собой T или P; X<sub>11</sub> представляет  
10 собой N или G; X<sub>12</sub> представляет собой G или K; X<sub>13</sub> представляет собой S или A; X<sub>14</sub>  
представляет собой R или K; X<sub>15</sub> представляет собой K или Y; X<sub>16</sub> представляет собой I  
или V; X<sub>17</sub> представляет собой N или S; X<sub>18</sub> представляет собой V или L; X<sub>19</sub>  
представляет собой S или P; X<sub>20</sub> представляет собой I или F; X<sub>21</sub> представляет собой D  
или T; X<sub>22</sub> представляет собой N или G; X<sub>23</sub> представляет собой G или D.

### Идентификация эпитопа

15 Эпитоп на CD3 определяли методом масс-спектрометрии с водородно-  
дейтериевым обменом (HDX-MS). Клон антитела ОКТ3 использовали в качестве  
контроля для эксперимента HDX, поскольку его эпитоп на CD3ε известен на основании  
кристаллической структуры (идентификатор PDB 1SY6) (Kjer-Nielsen, L. *et al.*; *Proc*  
*Natl Acad Sci U S A* **101**, 7675-7680).

20 *Эксперимент по обмену данными для HDX-MS.* Реакцию обмена инициировали  
путем смешивания 10 мкл 10 мкМ CD3W220 (**SEQ ID NO: 375**), который был  
образован из CD3εγ, слитого с линкерной областью 26-аа, слитой с сывороточным  
альбумином, с 1,2 молярным избытком лиганда или без него, и 30 мкл H<sub>2</sub>O или  
дейтерированного буфера (20 мМ MES, pH 6,4, 150 мМ NaCl в 95% D<sub>2</sub>O или 20 мМ  
25 Tris, pH 8,4, 150 мМ NaCl в 95% D<sub>2</sub>O). Реакционную смесь инкубировали в течение 15,  
50, 150, 500 или 1500 сек при 1,2 °C. Ионообменный раствор гасили путем добавления  
40 мкл охлажденной 8 М мочевины, 1 М TCEP, pH 3,0, и сразу анализировали.

#### **CD3W220 (CD3εγ-HSA-6xHis) (SEQ ID NO: 375):**

QDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGEDDKNI  
30 GSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVGSADDAKKDAAKK  
DDAKKDDAKKDGSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAEAKNITWFKDGKMIGF  
LTEDKKKWNLGSNAKDPRGMYQCKGSQNKSKPLQVYYRMGGGSDAHKSEVAHRF  
KDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT  
LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAQEPERNECFLQHKDDNPPLPRLVRPEVDVMC

TAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPK  
 LDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTD  
 LTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLLKECCEKPLLEKSHCIAEVEN  
 DEMPADPLSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAK  
 5 TYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQNCSELFELGEYKFQNALL  
 VRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLH  
 EKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQI  
 KKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAAS  
 SQAALGLGGGSHHHHHHHH

10           Общая процедура получения данных HDX-MS. Подготовку образцов HDX-MS  
 проводили с помощью автоматизированной системы HDx (LEAP Technologies,  
 г. Морристилл, штат Северная Каролина). Колонки и насосы; протеаза, протеаза типа  
 XIII (протеаза из *Aspergillus saitoi*, тип XIII) /пепсин (масс./масс., 1:1; 2,1 x 30 мм)  
 (NovaBioAssays Inc., Вобурн, штат Массачусетс); обращенно-фазная предколонка  
 15 ACQUITY UPLC BEH C18 VanGuard (2,1 мм x 5 мм) (Waters, Милфорд, штат  
 Массачусетс), аналитическая колонка Accucore C18 (2,1 мм x 100 мм) (Thermo Fisher  
 Scientific, Уолтем, штат Массачусетс); и LC насос, VH-P10-A (Thermo Fisher Scientific).  
 Параметры загрузочного насоса (из колонки с протеазой в обращенно-фазную колонку)  
 были установлены следующим образом: скорость потока 600 мкл/мин, 99% воды, 1%  
 20 ацетонитрила, 0,1% муравьиной кислоты. Настройки градиентного насоса (от  
 обращенно-фазной колонки к аналитической колонке): от 8% до 28% ацетонитрила в  
 0,1% водной муравьиной кислоте в течение 20 мин при 100 мкл/мин.

*Сбор данных MS.* Анализы методом масс-спектрометрии проводили с  
 использованием масс-спектрометра LTQ™ Orbitrap Fusion Lumos (Thermo Fisher  
 25 Scientific) с температурой капилляра 275 °С, разрешением 150 000 и диапазоном масс  
 (масса/заряд) 300–1800.

*Извлечение данных HDX-MS.* Приложение BioPharma Finder 3.0 (Thermo Fisher  
 Scientific) использовали для идентификации пептидов недеитерированных образцов  
 перед проведением экспериментов HDX. Для экстракции значений центроидов из MS  
 30 файлов необработанных данных для проведения экспериментов HDX использовали  
 программу HDExaminer версии 2.5 (Sierra Analytics, г. Модесто, штат Калифорния).

*Анализ данных HDX-MS.* Извлеченные данные HDX-MS дополнительно  
 анализировали в Excel. Все временные точки обмена (при pH 6,4 или pH 8,4 при 1,2 °С)

преобразовывали в эквивалентные временные точки при pH 7,4 и 23 °С (например, 15 сек при pH 6,4 и 1,2 °С эквивалентны 0,15 сек при pH 7,4 и 23 °С; **таблица 33**).

**Таблица 33. Условия реакции HDX и продолжительность обмена в зависимости от временных точек обмена с поправкой на pH 7,4 и 23 °С.**

Время, регулируемое при pH 7,4, 23 °С (сек)	pH 6,4, 1,2 °С (сек)	pH 8,4, 1,2 °С (сек)
0,015	-----	-----
0,05	-----	-----
0,15	15	-----
0,5	50	-----
1,5	150	-----
5	500	-----
15	1500	15
50	-----	50
150	-----	150
500	-----	500
1500	-----	1500

*Результаты.* Инкубация KLCB91, биспецифических антител, содержащих CD3W245 в качестве плеча антитела к CD3, с рекомбинантным CD3ε приводили к возникновению различных рисунков общей защиты и степеней защиты при конкретных сегментах антигена. Как KLCB91, так и ОКТЗ защищали прерывистые сегменты (**ФИГ. 14**), указывая на конформационные неидентичные эпитопы. Защищенные сегменты сопоставлялись с кристаллической структурой CD3ε (PDB 1SY6) для визуализации связывающих эпитопов в трех измерениях.

В соответствии с кристаллической структурой ОКТЗ, связанной с CD3ε (Uniprot ID P07766), было обнаружено, что эпитоп ОКТЗ состоит из пептидов, покрывающих остатки 29–37, 79–84 и 87–89 CD3ε (**SEQ ID NO: 375** и **Фиг. 14**). CD3W245, связанный с эпитопом, частично перекрывающимся с ОКТЗ, включал аминокислотные остатки 29–37, 55–63 и 79–84 Cd3ε (**SEQ ID NO: 375** и **Фиг. 14**).

#### **Связывание гуманизированных вариантов scFv антител CD3 с CD3 после теплового шока.**

Вариабельные области молекул антител к CD3 были организованы в виде scFv в ориентации VH-VL с использованием линкера GTEGKSSGSGSESKST (**SEQ ID NO: 376**) (**таблица 34**) для экспрессии в *E. coli*, а затем скринированы на связывание с рекомбинантным CD3 (гомодимерный CD3εγ-Fc, CD3W147, **SEQ ID NO: 377**), связывание с Т-клетками и термостабильность.

**CD3W147 (SEQ ID NO: 377):**

QDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNI  
 GSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVGSADDAKKDAKK  
 DDAKKDDAKKDGSQSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAEAKNITWFKDGKMIGF  
 LTEDKKKWNLGSNAKDPRGMYQCKGSQNKSKPLQVYYRMGSGSLGGPSVFLFPPKP  
 5 KDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV  
 SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTFPPSQEEMTK  
 NQVSLRCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTKPVLDSDGSFRLESRLTVDKSRW  
 QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSSGGHHHHHHH

10 **Таблица 34. Аминокислотные последовательности scFv-HL-E.c.**

scFv	SEQ ID NO:	Аминокислотная последовательность
CD3W234-HL-E.c.	378	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGKGL EWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTA IYYCTRGWGPFDYWGQGLVTVSSGTEGKSSGSGSESKSTDIQTQ PGILSVSPGERVSFSCRARQSIGTAIHWYQRTNGSPRLLIYASESIS GIPSRFSGSGSDFTLTINSVESEDIADYYCQQSNSWPYTFGGGTKL EIKGPGGQHHHHHHHGAYPYDVPDYAS
CD3W238-HL-E.c.	379	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGKGL EWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTA IYYCTRGWGPFDYWGQGLVTVSSGTEGKSSGSGSESKSTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRARQSIGTAIHWYQQKPGKAPKLLIYASES ISGVPSRFSGSGSDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNSWPYTFGQGT KLEIKGPGGQHHHHHHHGAYPYDVPDYAS
CD3W242-HL-E.c.	380	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGKGL EWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTA IYYCTRGWGPFDYWGQGLVTVSSGTEGKSSGSGSESKSTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRARQSIGTAIHWYQQKPGKAPKLLIYASES ISGVPSRFSGSGSDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNSWPYTFGQGT KLEIKGPGGQHHHHHHHGAYPYDVPDYAS
CD3W243-HL-E.c.	381	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGKGL EWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTA IYYCTRGWGPFDYWGQGLVTVSSGTEGKSSGSGSESKSTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRARQSIGTAIHWYQQKPGKAPKLLIYASES ISGVPSRFSGSGSDFTLTISVQPEDFATYYCQQSNSWPYTFGQGT KLEIKGPGGQHHHHHHHGAYPYDVPDYAS
CD3W244-HL-E.c.	382	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGKGL EWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTA IYYCTRGWGPFDYWGQGLVTVSSGTEGKSSGSGSESKSTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRARQSIGTAIHWYQQKPGKAPKLLIYASES ISGVPSRFSGSGSDFTLTISVQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGQGT KLEIKGPGGQHHHHHHHGAYPYDVPDYAS
CD3W245-HL-E.c.	383	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGKGL EWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTA IYYCTRGWGPFDYWGQGLVTVSSGTEGKSSGSGSESKSTDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRARQSIGTAIHWYQQKPGKAPKLLIYASES

		ISGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGQGT KLEIKGPGGQHIIIIIIHGAYPYDVPDYAS
CD3W246-HL-E.c.	384	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGKGL EWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTA IYYCTRGWGPFDYWGQGLVTVSSGTEGKSSGSGSESKSTDIQMTQ SPSSLSASVGDRTITCRARQSIGTAIHWYQQKPKAPKLLIKYASES ISGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGQGT KLEIKGPGGQHIIIIIIHGAYPYDVPDYAS
CD3W247-HL-E.c.	385	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGKGL EWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTA IYYCTRGWGPFDYWGQGLVTVSSGTEGKSSGSGSESKSTDIQMTQ SPSSLSASVGDRTITCRARQSIGTAIHWYQQKPKAPKLLIYYASES ISGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGQGT KLEIKGPGGQHIIIIIIHGAYPYDVPDYAS
CD3W248-HL-E.c.	386	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGKGL EWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTA IYYCTRGWGPFDYWGQGLVTVSSGTEGKSSGSGSESKSTDILLTQS PGILSVSPGERVSFSCRARQSIGTAIHWYQQRNTGSPRLIKYASESIS GIPSRFSGSGSGTDFTLTINSVESEDIADYYCQQSGSWPYTFGGGTKL EIKGPGGQHIIIIIIHGAYPYDVPDYAS

Вкратце, последовательности, кодирующие scFv, клонировали в вектор pADL™-22с, имеющий лидерную последовательность PelB для секреции. Клетки E. coli трансформировали с помощью плазмид и выращивали в течение ночи при 37 °C в среде для выращивания микроорганизмов 2xYT с добавлением 100 мкг/мл карбенициллина. Экспрессию белка индуцировали добавлением 1 mM IPTG, а культуры выращивали в течение ночи. После экспрессии клетки осаждали центрифугированием при 2200 X g в течение 5 мин, а супернатанты собирали и исследовали непосредственно на связывание с биотинилированным CD3W147 методом твердофазного ИФА.

Для анализа ИФА биотинилированный CD3W147 (SEQ ID NO: 377) иммобилизовали на планшете в концентрациях от 0,039 мкг/мл до 2,5 мкг/мл в 2-кратных разведениях с последующей инкубацией при комнатной температуре в течение 45 мин. Связанный scFv обнаруживали с использованием анти-НА-активной пероксидазы хрена в куриных эмбрионах, а затем обнаруживали с помощью хемилюминесцентного субстрата. Все исследованные молекулы scFv, полученные из CD3B815, связывались с CD3ε (ФИГ. 12).

Затем молекулы scFv исследовали на их способность связывать Т-клетки методом проточной цитометрии. Вкратце, человеческие Т-клетки размораживали и повторно суспендировали в буферном растворе для поточного окрашивания в количестве  $1 \times 10^6$  клеток/мл и высевали при 50 000 клеток/лунку. Для сравнения связывания применяли положительный контроль (CD3W36), содержащий антитело к CD3 SP34, отформатированное как LH-scFv, и отрицательный контроль (B23) – scFv, нацеленный на F-гликопротеин из респираторно-синцитиального вируса. Супернатанты E. coli добавляли в количестве 150 мкл/лунку и инкубировали при 4 °C в

течение 1 ч. После инкубации планшеты промывали буфером для окрашивания, а обнаружение проводили с помощью антитела к His, конъюгированного с Alexa-647 в буфере для окрашивания. После инкубации в смесь добавляли 200 мкл рабочего буфера IntelliCyt, и клетки повторно суспендировали в 30 мкл рабочего буфера, содержащего 5 зеленый краситель Sytox в соотношении 1:1000, и анализировали на платформе iQue Screener. Гейтинг и анализ проводили как указано выше. Все молекулы scFv, полученные из CD3B815, показывали средние индексы флуоресценции, соответствующие связыванию Т-клеток (**таблица 35**).

10 **Таблица 35. Т-клеточное связывание гуманизированных молекул scFv.**

Белки	MFI (n = 2)
CD3W245-HL-E.c.	178140,0
CD3W244-HL-E.c.	165631,0
CD3W246-HL-E.c.	153895,8
CD3W238-HL-E.c.	137380,4
CD3W242-HL-E.c.	126105,9
CD3W243-HL-E.c.	111347,6
CD3W241-HL-E.c.	120793,8
CD3W247-HL-E.c.	110932,3
CD3W248-HL-E.c.	60437,1
CD3W234-HL-E.c.	66790,3
B23	51,8
CD3W36	99451,6

### Пример 10. Получение биспецифических антител HLA-G x CD3

Области VH/VL антител к HLA-G, полученные в примерах 1–3, и области VH/VL антител к CD3 из примера 4 конструировали как биспецифический формат и 15 экспрессировали как IgG1.

### Конструирование scFv CD3 для получения биспецифического HLA-G x CD3.

Области VH/VL CD3 конструировали как scFv в ориентации VH-линкер-VL или VL-линкер-VH с использованием линкера SEQ ID NO: 8 (**таблица 36**). Молекулы VH-линкер-VL или VL-линкер-VH, связывающие CD3, дополнительно конструировали как формат scFv-шарнирная область-CH2-CH3, содержащий сайленсинг-мутацию Fc (L234A/L235A/D265S) и мутации T350V/L351Y/F405A/Y407V, сконструированные для активации селективной гетеродимеризации (**таблица 37**). Полипептиды с SEQ ID NO: 387 или 492 применяли в качестве домена константной шарнирной области-CH2-CH3. 20 Последовательности ДНК молекул антител к CD3 в формате scFv и формате scFv-шарнирная область-CH2-CH3 представлены в **таблице 38**.

**SEQ ID NO: 387 (huIgG1\_G1m(17)-шарнирная область-****Fc\_C220S\_AAS\_ZWA)**

EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV<sup>5</sup>VVVSVSHEDPEVK  
 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP  
 APIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP  
 ENNYKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNV<sup>5</sup>FSCSVMHEALHNHYTQKSLSL  
 SPG

**SEQ ID NO: 492**

EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV<sup>10</sup>VVVSVSHE  
 DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV  
 NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE  
 SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNV<sup>10</sup>FSCSVMHEALHNHYTQ  
 KSLSLSPGK

15 **В таблице 36 представлены последовательности scFv выбранных антител к CD3.**

Сокращение	Аминокислотная последовательность scFv	SEQ ID NO:
CD3W244_HL	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGKGLEWVSSISTS SNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAIYYCTRGWGPF <sup>5</sup> FDYWG QGTLVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAR QSIGTAIH <sup>5</sup> WYQQKPGKAPKLLIYYASESISGVP <sup>5</sup> SRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDF ATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIK	388
CD3W244_LH	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRARQSIGTAIH <sup>5</sup> WYQQKPGKAPKLLIYYASESIS GVP <sup>5</sup> SRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIKGGSE GKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVR QAPGKGLEWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTA IYYCTRGWGPF <sup>5</sup> FDYWGQGT <sup>5</sup> LVTVSS	389
CD3W245_HL	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGKGLEWVSSISTS SNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAIYYCTRGWGPF <sup>5</sup> FDYWG QGTLVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAR QSIGTAIH <sup>5</sup> WYQQKPGKAPKLLIKYASESISGVP <sup>5</sup> SRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDF ATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIK	390
CD3W245_LH	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRARQSIGTAIH <sup>5</sup> WYQQKPGKAPKLLIKYASESIS GVP <sup>5</sup> SRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIKGGSE GKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVR QAPGKGLEWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTA IYYCTRGWGPF <sup>5</sup> FDYWGQGT <sup>5</sup> LVTVSS	391
CD3W246_HL	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGKGLEWVSSISTS SNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAIYYCTRGWGPF <sup>5</sup> FDYWG QGTLVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAR QSIGTAIH <sup>5</sup> WYQQKPGKAPKLLIKYASESISGVP <sup>5</sup> SRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDF ATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIK	392
CD3W246_LH	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRARQSIGTAIH <sup>5</sup> WYQQKPGKAPKLLIKYASESIS GVP <sup>5</sup> SRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIKGGSE GKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVR QAPGKGLEWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTA IYYCTRGWGPF <sup>5</sup> FDYWGQGT <sup>5</sup> LVTVSS	393
CD3W247_HL	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWVRQAPGKGLEWVSSISTS SNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAIYYCTRGWGPF <sup>5</sup> FDYWG QGTLVTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAR QSIGTAIH <sup>5</sup> WYQQKPGKAPKLLIYYASESISGVP <sup>5</sup> SRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDF ATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIK	394

CD3W247_LH	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRARQSIGTAIHWYQOKPGKAPKLLIYYASESIS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIKGGSE GKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWR QAPGKGLEWSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTA IYYCTRGWGPFYWGQGTLLTVSS	395
CD3W248_HL	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWRQAPGKGLEWSSISTS SNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAIYYCTRGWGPFYWG QGTLLTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDILLTQSPGILSVSPGERVFSRCRARQ SIGTAIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLTINSVESEDIAD YYCQQSGSWPYTFGGGKLEIK	396
CD3W248_LH	DILLTQSPGILSVSPGERVFSRCRARQSIGTAIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGI PSRFSGSGSGTDFTLTINSVESEDIADYYCQQSGSWPYTFGGGKLEIKGGSEKGS SGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWRQAP GKGLEWSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAIYY CTRGWGPFYWGQGTLLTVSS	397
CD3B450-LH	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSNIGTYKFSVSWYQHPGKAPKVMIEVSK RPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCVSYAGSGTLLFGGGTKLTVL GGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVFNNAA WSWIRQSPSRGLEWLRGTYRYSKWLVDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSV TPEDTAVYVCARGYSSFDYWGQGTLLTVSS	398
CD3B219-LH	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTN KRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLT VLGGSEGKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTY AMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQ MNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAWYWGQGTLLTVSS	399
нуль-scFv	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQOKPGCAPKLLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKGGGSG GSGGCPGCGSGGEVQLLESQGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCAKYDGIYGELDFWGCGLTVSS	400

**Таблица 37. Аминокислотные последовательности выбранных scFv-Fc-плеч антител к CD3.**

Сокращение	Белок HC, SEQ ID NO:	SEQ ID NO:
CD3W244-HL-Fc	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWRQAPGKGLEWSSISTS SNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAIYYCTRGWGPFYWG QGTLLTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRAR QSIGTAIHWYQOKPGKAPKLLIYYASESISGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDF ATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALV SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK	401
CD3W244-LH-Fc	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRARQSIGTAIHWYQOKPGKAPKLLIYYASESIS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIKGGSE GKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWR QAPGKGLEWSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAI YYCTRGWGPFYWGQGTLLTVSSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALV SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK	402
CD3W245-HL-Fc	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWRQAPGKGLEWSSISTS SNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAIYYCTRGWGPFYWG QGTLLTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRAR QSIGTAIHWYQOKPGKAPKLLIYYASESISGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIKEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALV SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK	403

CD3W245-LH-Fc	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRARQSIGTAIHWYQOKPGKAPKLLIKYASESIS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIKGGSEG KSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWRQ APGKGLEWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAIY YCTRGWGPFDYWGQGLTVTSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFALV KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	404
CD3W246-HL-Fc	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWRQAPGKGLEWVSSISTS SNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAIYYCTRGWGPFDYWG QGTLTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRAR QSIGTAIHWYQOKPGKAPKLLIKYASESISGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDF ATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIKPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFALV SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	405
CD3W246-LH-Fc	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRARQSIGTAIHWYQOKPGKAPKLLIKYASESIS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIKGGSE GKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWRQ QAPGKGLEWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAI YYCTRGWGPFDYWGQGLTVTSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFALV SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	406
CD3W247-HL-Fc	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWRQAPGKGLEWVSSISTS SNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAIYYCTRGWGPFDYWG QGTLTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRAR QSIGTAIHWYQOKPGKAPKLLIYYASESISGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIKPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFALV SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	407
CD3W247-LH-Fc	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRARQSIGTAIHWYQOKPGKAPKLLIYYASESIS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIKGGSEG KSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWRQ APGKGLEWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAIY YCTRGWGPFDYWGQGLTVTSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFALV KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	408
CD3W248-HL-Fc	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWRQAPGKGLEWVSSISTS SNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAIYYCTRGWGPFDYWG QGTLTVSSGGSEKSSGSGSESKSTGGSDILLTQSPGILSVSPGERVVFSCRARQY IGTAIHWYQQRINGSPRLLIKYASESISGPSRFSGSGSGTDFTLTINSVEEDIADY YCQQSGSWPYTFGGGKLEIKPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFALVSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	409
CD3W248-LH-Fc	DILLTQSPGILSVSPGERVVFSCRARQSIGTAIHWYQQRINGSPRLLIKYASESISGI PSRFSGSGSGTDFTLTINSVEEDIADYCYCQQSGSWPYTFGGGKLEIKGGSEGKS SGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWRQAP GKGLEWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDLQMSGLRAEDTAIYY CTRGWGPFDYWGQGLTVTSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFALVSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	410
CD3B450-LH-Fc	QSALTQPASVSGSPGQSITISGTSSNIGTYKFSVWYQQHPGKAPKVMIEVSK RPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDYCYCVSYAGSGTLLFGGGTKLTVL GGSEGKSSGSGSESKSTGGSQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVFNNAA WSWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWLYDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSV	411

	TPEDTAVYYCARGYSSSFYWGQGLVTVSSEPKSSDKTHTCPPEAPEAAGGPPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
CD3B219-LH-Fc	QTVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPKGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGGSEKSSGSGSESKSTGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNYAMNWRVQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNLSKTEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGLVTVSSEPKSSDKTHTCPPEAPEAAGGPPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	412
null-scFv-Fc	DIQMTQSPSSLSASVGRVITICRASQSISSYLNWYQKPKGAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKGGGSGSGGCPPCGSGGGEVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYDGIYGELDFWCGTLTVSSEPKSSDKTHTCPPEAPEAAGGPPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	413

**Таблица 38. SEQ ID NO ДНК для scFv антител CD3 и scFv-шарнирной области-CH2-CH3 (scFv-Fc)**

	ДНК scFv SEQ ID NO:	ДНК scFv-Fc SEQ ID NO
CD3W244_HL	414	426
CD3W244_LH	415	427
CD3W245_HL	416	428
CD3W245_LH	417	429
CD3W246_HL	418	430
CD3W246_LH	419	431
CD3W247_HL	420	432
CD3W247_LH	421	433
CD3W248_HL	422	434
CD3W248_LH	423	435
CD3B450_LH	424	436
CD3B219_LH	425	437

5 **SEQ ID NO: 414 (CD3W244\_HL)**

GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCTG  
CGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGGG  
TGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGCA  
GAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGTTACCTTCAGCCGCGA  
10 CAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACAC  
CGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCCATTCGACTACTGGGGCCAGGGC  
ACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGC  
AGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGC  
AGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGCGTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGA

GCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCCAAAGC  
TGCTGATCTACTACGCCAGCGAGAGCATCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGG  
CAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCGTGCAGCCAGAGGA  
CTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCGGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAG  
5 GGCACCAAGCTGGAGATCAAG

**SEQ ID NO: 415 (CD3W244\_LH)**

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGC  
GTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGAGCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACC  
10 AGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCCAAAGCTGCTGATCTACTACGCCAGCGAGAGCA  
TCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCT  
GACCATCAGCAGCGTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAG  
CGGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGCGG  
ATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAG  
15 CGAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCT  
GCGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGG  
GTGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGC  
AGCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCG  
ACAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACA  
20 CCGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCCATTCGACTACTGGGGCCAGGG  
CACCTGGTGACCGTGAGCAGC

**SEQ ID NO: 416 (CD3W245\_HL)**

GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCTG  
25 CGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGGG  
TGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGCA  
GCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCGA  
CAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACAC  
CGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCCATTCGACTACTGGGGCCAGGGC  
30 ACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGC  
AGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGC  
AGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGCGTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGA  
GCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCCAAAGC  
TGCTGATCAAGTACGCCAGCGAGAGCATCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCG

GCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGG  
ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCGGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCA  
GGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

5 **SEQ ID NO: 417 (CD3W245\_LH)**

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGC  
GTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGAGCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACC  
AGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCAAAGCTGCTGATCAAGTACGCCAGCGAGAGCA  
TCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCT  
10 GACCATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGC  
GGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGCGGA  
TCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGC  
GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCTG  
CGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGGG  
15 TGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGCA  
GCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCGA  
CAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACAC  
CGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCCATTGACTACTGGGGCCAGGGC  
ACCCTGGTGACCGTGAGCAGC

20

**SEQ ID NO: 418 (CD3W246\_HL)**

GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCTG  
CGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGGG  
TGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGCA  
25 GCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCGA  
CAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACAC  
CGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCCATTGACTACTGGGGCCAGGGC  
ACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGC  
AGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGC  
30 AGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGCGTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGA  
GCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCAAAGC  
TGCTGATCAAGTACGCCAGCGAGAGCATCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCG  
GCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCGTGCAGCCAGAGG

ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCGGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCA  
GGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

**SEQ ID NO: 419 (CD3W246\_LH)**

5 GACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGC  
GTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGAGCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACC  
AGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCAAGTACGCCAGCGAGAGCA  
TCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCT  
GACCATCAGCAGCGTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAG  
10 CGGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGCGG  
ATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAG  
CGAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCT  
GCGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGG  
GTGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGC  
15 AGCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCG  
ACAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACA  
CCGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCATTTCGACTACTGGGGCCAGGG  
CACCTGGTGACCGTGAGCAGC

20 **SEQ ID NO: 420 (CD3W247\_HL)**

GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCTG  
CGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGGG  
TGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGCA  
GCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCGA  
25 CAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACAC  
CGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCATTTCGACTACTGGGGCCAGGGC  
ACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGC  
AGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGC  
AGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGCGTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGA  
30 GCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCAAGC  
TGCTGATCTACTACGCCAGCGAGAGCATCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGG  
CAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGGA  
CTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCGGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAG  
GGCACCAAGCTGGAGATCAAG

**SEQ ID NO: 421 (CD3W247\_LH)**

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGC  
GTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGAGCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACC  
5 AGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCCAAAGCTGCTGATCTACTACGCCAGCGAGAGCA  
TCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCT  
GACCATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGC  
GGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGCGGA  
TCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGC  
10 GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCTG  
CGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGGG  
TGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGCA  
GCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCGA  
CAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACAC  
15 CGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCCATTCGACTACTGGGGCCAGGGC  
ACCCTGGTGACCGTGAGCAGC

**SEQ ID NO: 422 (CD3W248\_HL)**

GAGGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGGGTCCCTG  
20 AGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGATATAACATGAACTGGG  
TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCCATTAGTACTAGTAG  
TAATTACATATACTACGCAGACTCAGTGAAGGGCCGATTACCTTCTCCAGAGAC  
AACGCCAAGAACTCACTGGATCTGCAAATGAGCGGCCTGAGAGCCGAGGACACG  
GCTATTTATTACTGTACGAGAGGCTGGGGGCCTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAA  
25 CCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAG  
CGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGACATCTTGCTGACTCAGTCTCCAGGCATC  
CTGTCTGTGAGTCCAGGAGAAAGAGTCAGTTTCTCCTGCAGGGCCAGACAGAGCA  
TTGGCACAGCCATACTGGTATCAGCAAAGAACAATGGTTCTCCAAGGCTTCT  
CATAAAGTATGCTTCTGAGTCTATCTCTGGGATCCCTTCCAGGTTTAGCGGCAGTG  
30 GATCAGGGACAGATTTTACTCTTACCATCAACAGTGTGGAGTCTGAAGATATTGC  
AGATTATTACTGTCAACAAAGTGGGAGCTGGCCGTACACGTTCCGGAGGGGGGAC  
CAAGCTGGAAATAAAA

**SEQ ID NO: 423 (CD3W248\_LH)**

GACATCTTGCTGACTCAGTCTCCAGGCATCCTGTCTGTGAGTCCAGGAGAAAGAG  
 TCAGTTTCTCCTGCAGGGCCAGACAGAGCATTGGCACAGCCATACTGGTATCA  
 GCAAAGAACAAATGGTTCTCCAAGGCTTCTCATAAAGTATGCTTCTGAGTCTATC  
 5 TCTGGGATCCCTTCCAGGTTTAGCGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTACTCTTA  
 CCATCAACAGTGTGGAGTCTGAAGATATTGCAGATTATTACTGTCAACAAAGTGG  
 GAGCTGGCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAAGGCGGATC  
 TGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGA  
 GGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGGGTCCCTGAG  
 10 ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGATATAACATGAACTGGGTCC  
 GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCCATTAGTACTAGTAGTAA  
 TTACATATACTACGCAGACTCAGTGAAGGGCCGATTCACCTTCTCCAGAGACAAC  
 GCCAAGAACTCACTGGATCTGCAAATGAGCGGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT  
 ATTTATTACTGTACGAGAGGCTGGGGGCCTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC  
 15 TGGTCACCGTCTCCTCA

**SEQ ID NO: 426 (CD3W244\_HL-scFv-Fc)**

GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCTG  
 CGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGGG  
 20 TGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGCA  
 GCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCGA  
 CAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACAC  
 CGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCCATTCGACTACTGGGGCCAGGGC  
 ACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGC  
 25 AGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGC  
 AGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGCGTGACCATCACCTGTCTGTCGCCGCCAGA  
 GCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCCCAAAGC  
 TGCTGATCTACTACGCCAGCGAGAGCATCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGG  
 CAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCGTGCAGCCAGAGGA  
 30 CTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCGGCAGCTGGCCATAACCTTCGGCCAG  
 GGCACCAAGCTGGAGATCAAGGAGCCCAAATCTAGCGACAAAACCTCACACATGT  
 CCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCCTCTTCCCCC  
 CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGT  
 GGTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG

CGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAC  
 GTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG  
 GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACC  
 ATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCCA  
 5 TCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC  
 TTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC  
 AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTGA  
 GCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC  
 CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCT  
 10 CCGGGTAAA

**SEQ ID NO: 427 (CD3W244\_LH-scFv-Fc)**

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGC  
 GTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGAGCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACC  
 15 AGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCAAAGCTGCTGATCTACTACGCCAGCGAGAGCA  
 TCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCT  
 GACCATCAGCAGCGTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAG  
 CGGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGCGG  
 ATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAG  
 20 CGAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCT  
 GCGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGG  
 GTGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGC  
 AGCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCG  
 ACAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACA  
 25 CCGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCCATTCGACTACTGGGGCCAGGG  
 CACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGAGCCCAAATCTAGCGACAAAACACACATG  
 TCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCC  
 CCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGG  
 TGGTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG  
 30 GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCA  
 CGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAA  
 GGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAAC  
 CATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCC  
 ATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGG

CTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAA  
 CAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTG  
 AGCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCT  
 CCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTC  
 5 TCCGGGTAAA

**SEQ ID NO: 428 (CD3W245\_HL-scFv-Fc)**

GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCTG  
 CGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGGG  
 10 TGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGCA  
 GCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGTTTCACCTTCAGCCGCGA  
 CAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACAC  
 CGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCCATTCGACTACTGGGGCCAGGGC  
 ACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGC  
 15 AGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGC  
 AGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGCGTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGA  
 GCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCCAAAGC  
 TGCTGATCAAGTACGCCAGCGAGAGCATCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCG  
 GCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGG  
 20 ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCGGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCA  
 GGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGAGCCCAAATCTAGCGACAAAACCTCACACATG  
 TCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCC  
 CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGG  
 TGGTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG  
 25 GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCA  
 CGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAA  
 GGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAAC  
 CATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCCC  
 ATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGG  
 30 CTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAA  
 CAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTG  
 AGCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCT  
 CCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTC  
 TCCGGGTAAA

**SEQ ID NO: 429 (CD3W245\_LH-scFv-Fc)**

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGC  
 GTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGAGCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACC  
 5 AGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCCAAAGCTGCTGATCAAGTACGCCAGCGAGAGCA  
 TCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCT  
 GACCATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGC  
 GGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGCGGA  
 TCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGC  
 10 GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCTG  
 CGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGGG  
 TCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGCA  
 GCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCGA  
 CAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACAC  
 15 CGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCCATTCGACTACTGGGGCCAGGGC  
 ACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGAGCCCAAATCTAGCGACAAAACCTCACACATGT  
 CCACCGTGCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCC  
 CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGT  
 GGTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG  
 20 CGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAC  
 GTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG  
 GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACC  
 ATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCCA  
 TCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC  
 25 TTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC  
 AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTGA  
 GCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC  
 CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCT  
 CCGGGTAAA

30

**SEQ ID NO: 430 (CD3W246\_HL-scFv-Fc)**

GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCTG  
 CGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGGG  
 TCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGCA

GCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCGA  
 CAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACAC  
 CGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCATTGACTACTGGGGCCAGGGC  
 ACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGC  
 5 AGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGC  
 AGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGCGTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGA  
 GCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCCAAAGC  
 TGCTGATCAAGTACGCCAGCGAGAGCATCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCG  
 GCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCGTGCAGCCAGAGG  
 10 ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCGGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCA  
 GGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGAGCCCAAATCTAGCGACAAAACCTCACACATG  
 TCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCC  
 CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACACATGCGTGG  
 TGGTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG  
 15 GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCA  
 CGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAA  
 GGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAAC  
 CATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCC  
 ATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGG  
 20 CTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAA  
 CAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTG  
 AGCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCT  
 CCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTC  
 TCCGGGTAAA

25

**SEQ ID NO: 431 (CD3W246\_LH-scFv-Fc)**

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGC  
 GTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGAGCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACC  
 AGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCAAAGCTGCTGATCAAGTACGCCAGCGAGAGCA  
 30 TCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCT  
 GACCATCAGCAGCGTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAG  
 CGGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGCGG  
 ATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAG  
 CGAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCT

GCGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGG  
 GTGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGC  
 AGCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCG  
 ACAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACA  
 5 CCGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCCATTCGACTACTGGGGCCAGGG  
 CACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGAGCCCAAATCTAGCGACAAAACACACATG  
 TCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCC  
 CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGG  
 TGGTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG  
 10 GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCA  
 CGTACCGTGTGGTCAGCGTCCCTACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAA  
 GGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAAC  
 CATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCC  
 ATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGG  
 15 CTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAA  
 CAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTG  
 AGCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCT  
 CCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTC  
 TCCGGGTAAA

20

**SEQ ID NO: 432 (CD3W247\_HL-scFv-Fc)**

GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCTG  
 CGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGGG  
 TGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGCA  
 25 GCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCGA  
 CAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACAC  
 CGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCCATTCGACTACTGGGGCCAGGGC  
 ACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGC  
 AGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAAGC  
 30 AGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGCGTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGA  
 GCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCCCAAAGC  
 TGCTGATCTACTACGCCAGCGAGAGCATCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGG  
 CAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGGA  
 CTTCCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCGGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAG

GGCACCAAGCTGGAGATCAAGGAGCCCAAATCTAGCGACAAAACCTCACACATGT  
 CCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCC  
 CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGT  
 GGTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG  
 5 CGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAC  
 GTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG  
 GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACC  
 ATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCCA  
 TCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC  
 10 TTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC  
 AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTGA  
 GCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC  
 CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCT  
 CCGGGTAAA

15

**SEQ ID NO: 433 (CD3W247\_LH-scFv-Fc)**

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGC  
 GTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGAGCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACC  
 AGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCAAAGCTGCTGATCTACTACGCCAGCGAGAGCA  
 20 TCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCT  
 GACCATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGC  
 GGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGCGGA  
 TCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGC  
 GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCTG  
 25 CGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGGG  
 TGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGCA  
 GCAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCGA  
 CAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACAC  
 CGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCCATTCGACTACTGGGGCCAGGGC  
 30 ACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGAGCCCAAATCTAGCGACAAAACCTCACACATGT  
 CCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCC  
 CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGT  
 GGTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG  
 CGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAC

GTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG  
 GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACC  
 ATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCCA  
 TCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC  
 5 TTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC  
 AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTGA  
 GCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC  
 CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCT  
 CCGGGTAAA

10

**SEQ ID NO: 434 (CD3W248\_HL-scFv-Fc)**

GAGGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGGGTCCCTG  
 AGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGATATAACATGAACTGGG  
 TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCCATTAGTACTAGTAG  
 15 TAATTACATATACTACGCAGACTCAGTGAAGGGCCGATTCACCTTCTCCAGAGAC  
 AACGCCAAGAACTCACTGGATCTGCAAATGAGCGGCCTGAGAGCCGAGGACACG  
 GCTATTTACTGTACGAGAGGCTGGGGGCCTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAA  
 CCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGCGGATCTGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAG  
 CGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGACATCTTGCTGACTCAGTCTCCAGGCATC  
 20 CTGTCTGTGAGTCCAGGAGAAAGAGTCAGTTTCTCCTGCAGGGCCAGACAGAGCA  
 TTGGCACAGCCATACTGGTATCAGCAAAGAACAATGGTTCTCCAAGGCTTCT  
 CATAAAGTATGCTTCTGAGTCTATCTCTGGGATCCCTTCCAGGTTTAGCGGCAGTG  
 GATCAGGGACAGATTTTACTCTTACCATCAACAGTGTGGAGTCTGAAGATATTGC  
 AGATTACTGTCAACAAAGTGGGAGCTGGCCGTACACGTTCCGAGGGGGGAC  
 25 CAAGCTGGAAATAAAAGAGCCCAAATCTAGCGACAAAACACTCACACATGTCCACC  
 GTGCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAA  
 CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGA  
 GCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG  
 AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACC  
 30 GTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTA  
 CAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC  
 AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCCATCCCGG  
 GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC  
 CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACA

AGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTGAGCAAGCT  
 CACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG  
 CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTA  
 AA

5

**SEQ ID NO: 435 (CD3W248\_LH-scFv-Fc)**

GACATCTTGCTGACTCAGTCTCCAGGCATCCTGTCTGTGAGTCCAGGAGAAAGAG  
 TCAGTTTCTCCTGCAGGGCCAGACAGAGCATTGGCACAGCCATACTGGTATCA  
 GCAAAGAACAAATGGTTCTCCAAGGCTTCTCATAAAGTATGCTTCTGAGTCTATC  
 10 TCTGGGATCCCTTCCAGGTTTAGCGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTACTCTTA  
 CCATCAACAGTGTGGAGTCTGAAGATATTGCAGATTATTACTGTCAACAAAGTGG  
 GAGCTGGCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAAGGCGGATC  
 TGAGGGAAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCGA  
 GGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGGGGTCCCTGAG  
 15 ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGATATAACATGAACTGGGTCC  
 GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCCATTAGTACTAGTAGTAA  
 TTACATATACTACGCAGACTCAGTGAAGGGCCGATTCACCTTCTCCAGAGACAAC  
 GCCAAGAACTCACTGGATCTGCAAATGAGCGGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCT  
 ATTTATTACTGTACGAGAGGCTGGGGGCCTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC  
 20 TGGTCACCGTCTCCTCAGAGCCCAAATCTAGCGACAAAACCTCACACATGTCCACC  
 GTGCCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAA  
 CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGA  
 GCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG  
 AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACC  
 25 GTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTA  
 CAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC  
 AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCCCATCCCGG  
 GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC  
 CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACA  
 30 AGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTGAGCAAGCT  
 CACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG  
 CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTA  
 AA

**SEQ ID NO: 424 (CD3W450\_LH-scFv)**

CAGTCTGCTCTGACCCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGCTCTCCCGGCCAGTCCATCAC  
CATCAGCTGTACCGGCACCTCCTCCAACATCGGCACCTACAAGTTCGTGTCCTGG  
TATCAGCAGCACCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTGATGATCTACGAGGTGTCCAAG  
5 CGGCCCTCCGGCGTGTCCAACAGATTCTCCGGCTCCAAGTCCGGCAACACCGCCT  
CCCTGACAATCAGCGGACTGCAGGCCGAGGACGAGGCCGACTACTACTGTGTGTC  
CTACGCCGGCTCTGGCACCTGCTGTTTGGCGGCGGAACAAAGCTGACCGTGCTG  
GGCGGCTCCGAGGGCAAGAGCAGCGGCAGCGGCAGCGAGAGCAAGAGCACCGG  
CGGCAGCCAAGTGCAACTCCAACAAAGCGGCCCCAGGGCTGGTAAAGCCTTCACA  
10 GACCCTCTCACTTACTTGCGCAATATCTGGGGACTCCGTGTTTAATAACAATGCTG  
CATGGAGCTGGATTCCGCCAGAGCCCAAGTCGCGGGCTCGAGTGGCTTGGTTCGAAC  
CTATTACCGCTCCAAGTGGCTCTATGACTACGCAGTAAGCGTCAAATCACGGATA  
ACAATCAACCCTGACACATCCAAGAATCAGTTTAGTCTGCAACTCAACTCAGTCA  
CCCCTGAGGATACCGCAGTGTATTATTGTGCCAGAGGGTACAGCTCTTCCTTTGAT  
15 TACTGGGGCCAAGGTACACTGGTAAACAGTATCAAGC

**SEQ ID NO: 436 (CD3W450\_LH-scFv-Fc)**

CAGTCTGCTCTGACCCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGCTCTCCCGGCCAGTCCATCAC  
CATCAGCTGTACCGGCACCTCCTCCAACATCGGCACCTACAAGTTCGTGTCCTGG  
20 TATCAGCAGCACCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTGATGATCTACGAGGTGTCCAAG  
CGGCCCTCCGGCGTGTCCAACAGATTCTCCGGCTCCAAGTCCGGCAACACCGCCT  
CCCTGACAATCAGCGGACTGCAGGCCGAGGACGAGGCCGACTACTACTGTGTGTC  
CTACGCCGGCTCTGGCACCTGCTGTTTGGCGGCGGAACAAAGCTGACCGTGCTG  
GGCGGCTCCGAGGGCAAGAGCAGCGGCAGCGGCAGCGAGAGCAAGAGCACCGG  
25 CGGCAGCCAAGTGCAACTCCAACAAAGCGGCCCCAGGGCTGGTAAAGCCTTCACA  
GACCCTCTCACTTACTTGCGCAATATCTGGGGACTCCGTGTTTAATAACAATGCTG  
CATGGAGCTGGATTCCGCCAGAGCCCAAGTCGCGGGCTCGAGTGGCTTGGTTCGAAC  
CTATTACCGCTCCAAGTGGCTCTATGACTACGCAGTAAGCGTCAAATCACGGATA  
ACAATCAACCCTGACACATCCAAGAATCAGTTTAGTCTGCAACTCAACTCAGTCA  
30 CCCCTGAGGATACCGCAGTGTATTATTGTGCCAGAGGGTACAGCTCTTCCTTTGAT  
TACTGGGGCCAAGGTACACTGGTAAACAGTATCAAGCGAGCCCAAATCTAGCGAC  
AAAATCACACATGTCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGGACCGTCA  
GTCTTCCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA  
GGTCACATGCGTGGTGGTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA

CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA  
 GCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC  
 TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCC  
 CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTG  
 5 TACGTGTACCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCT  
 GCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATG  
 GGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT  
 CCTTCGCCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGA  
 ACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAA  
 10 GAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT

**SEQ ID NO: 425 (CD3B219\_LH-scFv)**

CAGACAGTGGTGACCCAGGAACCTAGCCTCACCGTGAGCCCCGGAGGAACCGTG  
 ACCCTGACCTGCAGAAGCAGCACCGGCGCCGTGACCACCAGCAACTACGCCAAC  
 15 TGGGTGCAGCAGAAACCTGGCCAGGCCCCTAGAGGCCTGATTGGCGGCACCAAT  
 AAGAGGGCCCCCGGAACCCCTGCCAGGTTTAGCGGCAGCCTGCTGGGCGGCAAG  
 GCTGCTCTGACCCTGTCCGGAGTGCAGCCCAGGATGAGGCCGAGTACTACTGCG  
 CCCTGTGGTACAGCAACCTCTGGGTGTTCGGCGGCGGCACAAAGCTGACCGTGCT  
 CGGCGGCTCCGAGGGCAAGAGCAGCGGCAGCGGCAGCGAGAGCAAGAGCACCG  
 20 GCGGCAGCGAAGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCCGGA  
 GGAAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTTACCTTCAACACCTACGCCA  
 TGAAGTGGGTGAGACAGGCCCCCGAAAGGGCCTGGAATGGGTGCGCCAGGATCA  
 GGTCCAAGTACAACAACACTACGCCACCTACTACGCTGCCAGCGTGAAGGGCAGGTT  
 CACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCT  
 25 GAAGACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGTGAGGCACGGAACTTCGGCAA  
 CAGCTACGTGAGCTGGTTCGCCTACTGGGGCCAAGGCACACTGGTCCAGTGTCC  
 AGC

**SEQ ID NO: 437 (CD3B219\_LH-scFv-Fc)**

30 CAGACAGTGGTGACCCAGGAACCTAGCCTCACCGTGAGCCCCGGAGGAACCGTG  
 ACCCTGACCTGCAGAAGCAGCACCGGCGCCGTGACCACCAGCAACTACGCCAAC  
 TGGGTGCAGCAGAAACCTGGCCAGGCCCCTAGAGGCCTGATTGGCGGCACCAAT  
 AAGAGGGCCCCCGGAACCCCTGCCAGGTTTAGCGGCAGCCTGCTGGGCGGCAAG  
 GCTGCTCTGACCCTGTCCGGAGTGCAGCCCAGGATGAGGCCGAGTACTACTGCG

CCCTGTGGTACAGCAACCTCTGGGTGTTTCGGCGGCAGCACAAGCTGACCGTGCT  
 CGGCGGCTCCGAGGGCAAGAGCAGCGGCAGCGGCAGCGAGAGCAAGAGCACCG  
 GCGGCAGCGAAGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCCGGA  
 GGAAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTTACCTTCAACACCTACGCCA  
 5 TGAAGTGGGTGAGACAGGCCCCCGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGCGCCAGGATCA  
 GGTCCAAGTACAACAACCTACGCCACCTACTACGCTGCCAGCGTGAAGGGCAGGTT  
 CACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCT  
 GAAGACCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGTGAGGCACGGAACTTCGGCAA  
 CAGCTACGTGAGCTGGTTCGCCTACTGGGGCCAAGGCACACTGGTTCACAGTGTCC  
 10 AGCGAGCCCAAATCTAGCGACAAAACCTCACACATGTCCACCGTGCCCAGCACCTG  
 AAGCAGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCTT  
 CATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGAGCGTGAGCCACGAA  
 GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC  
 AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCGTC  
 15 CTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT  
 CCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGC  
 AGCCCCGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA  
 AGAACAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGC  
 CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCC  
 20 CGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAG  
 TCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGC  
 ACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT

### **Конструирование Fab CD3 для получения биспецифического HLA-G x CD3.**

25 Специфические области VH и VL CD3 конструировали в форматах VH-CH1-  
 шарнирная область-CH2-CH3 (таблица 39) и VL-CL (таблица 40) соответственно и  
 экспрессировали в виде IgG1. Полипептиды с **SEQ ID NO: 158 или 493**, содержащие  
 сайленсинг-мутацию L234A/L235A/D265S Fc и мутацию T350V/L351Y/F405A/Y407V  
 CH3, сконструированную с возможностью активации селективной гетеродимеризации,  
 30 применяли для получения CD3-специфичной молекулы VH-CH1-шарнирная область-  
 CH2-CH3 (таблица 39). B23B62 использовали в качестве изотипического контроля.

#### **SEQ ID NO: 158 (huIgG1\_G1m(17)\_AAS\_ZWA)**

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQ  
 SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPE

AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK  
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ  
 VYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF  
 ALVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

5

**SEQ ID NO: 493**

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ  
 SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE  
 AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK  
 10 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ  
 VYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF  
 ALVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

15

Последовательности ДНК молекул антител к CD3 в формате VH-CH1-линкер-CH2-CH3  
 представлены в **таблице 41**.

**Таблица 39. Аминокислотная последовательность антитела к CD3 в формате VH-CH1-шарнирная область-CH2-CH3. Последовательности тяжелой цепи выбранных антител к CD3.**

Белок HC	SEQ ID NO:	Аминокислотная последовательность HC
CD3W244 HC, CD3W245 HC, CD3W246 HC, CD3W247 HC, CD3W248 HC	438	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWRQAPGKGLEWVSSISTSSN YIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDELQMSGLRAEDTAIYYCTRGWGPFDDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSGDSGFALVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
CD3W244 HC, CD3W245 HC, CD3W246 HC, CD3W247 HC, CD3W248 HC, без C- концевого Lys	491	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNWRQAPGKGLEWVSSISTSSN YIYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLDELQMSGLRAEDTAIYYCTRGWGPFDDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSGDSGFALVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
CD3B376 HC	439	QVQLQQSGPRLVRPSQTLSTCAISGDSVFNNNAAWSWIRQSPSRGLEWLGRTYYR SKWLYDYAVSVKSRITVNPDTSRNQFTLQLNSVTPEDTALYYCARGYSSSFDDYWGQ GTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGDSGFALVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

CD3B376 HC, без C- концевого Lys	489	QVQLQQSGPRLVRPSQTLSTCAISGDSVFNNNAAWSWIRQSPSRGLEWLGRTYYR SKWLYDYAVSVKSRITVNPDTSRNQFTLQLNSVTPEDTALYYCARGYSSSFYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVIVSVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSPG
CD3B450 HC	440	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVFNNNAAWSWIRQSPSRGLEWLGRTYYR SKWLYDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVVYVCARGYSSSFYWGQ GTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVIVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSPG
CD3B219 HC	441	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY NNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVVYCVRHGNFGNSYVS WFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVIVSVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQ KLSLSPG
B23B62 HC	482	QITLKEGPTLVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSGMGVSWIRQPPGKALEWLAHIYWD DKRYNP SLK SRLTITKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARLYGFTYGFAYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVIVSVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYVYPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSPG

**Таблица 40. Аминокислотные последовательности легких цепей выбранных антител к CD3.**

Белок LC	SEQ ID NO:	Аминокислотная последовательность LC
CD3W244 LC	442	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRARQSIGTAIHWYQQKPGKAPKLLIYYASESIG VPSRFSGSGSGTDFTLTISVQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGGGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
CD3W245 LC	443	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRARQSIGTAIHWYQQKPGKAPKLLIYYASESIG VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGGGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
CD3W246 LC	444	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRARQSIGTAIHWYQQKPGKAPKLLIYYASESIG VPSRFSGSGSGTDFTLTISVQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGGGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
CD3W247 LC	445	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRARQSIGTAIHWYQQKPGKAPKLLIYYASESIG VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSGSWPYTFGGGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
CD3W248 LC	446	DILLTQSPGILSVSPGERVFSRCRARQSIGTAIHWYQQRTNGSPRLLIYYASESIGIP SRFSGSGSGTDFTLTINSVESEDIADYYCQQSGSWPYTFGGGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
CD3B376 LC	447	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSNIGTYKFSVSWYQQHPDKAPK VLLYEVSKRP SGVSSRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDQADYHCVSYAGSGTLLFGGGTKLTVLGGP KAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAADSSPVKAGVETTPS

		KQSNNKYAASSYLSTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
CD3B450 LC	448	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSNIGTYKFVSWYQQHPGKAPKVMIEVSKRP SGVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCVSYAGSGTLLFGGGTKLTVLGQP KAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPS KQSNNKYAASSYLSTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
CD3B219 LC	449	qtvvtqepsitvspggtvltcrsstgavitsnyanwvqqkpgqaprglignkrapgtparfsgslgkaaltlsgvqpedea eyycalwysnlwvfgggtklvlgqkaapsvltfppsseelqankatlvclisdfypgavtvawkadsspvkagvettpsk qsunkyaassylstpeqwkshrsyscqvtgsgstvektvaptecs
B23B62 LC	483	divmtqspdslavslgeratincrasqsvdyngisymlhwyqqkpgqppklliyaasnpesgypdrfsgsgsgtdflitisslqa edvavyycqqiiedpwtfgggtkveikrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfybreakvqwkvdnalqsgnsqes vteqskdstysslstltskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

**Таблица 41. SEQ ID NO кДНК антител к CD3 HC в формате VH-CH1-шарнирная область-CH2-C3 и LC в формате VL-CL.**

Антитело	кДНК HC с SEQ ID NO:	кДНК LC с SEQ ID NO:
CD3W244	450	454
CD3W245	450	455
CD3W246	450	456
CD3W247	450	457
CD3W248	450	458
CD3B376	451 или 499	459
CD3B450	452	460
CD3B219	453	461

5 **SEQ ID NO: 450 (кДНК HC CD3W244, CDRW245, CD3W246, CD3W247, CD3W248)**  
GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGTGGCGGTCTGGTGAAGCCAGGTGGCAGCCTG  
CGCCTGAGCTGTGCCGCCAGCGGTTTCACCTTCAGCCGCTACAACATGAACTGGG  
TGCGCCAAGCCCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCAGCATCAGCACCAGCA  
GAACTACATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCTTCAGCCGCGA  
10 CAACGCCAAGAACAGCCTGGACCTGCAGATGAGCGGTCTGCGCGCCGAGGACAC  
CGCCATCTACTACTGCACCCGCGGTTGGGGCCATTCGACTACTGGGGCCAGGGC  
ACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGG  
CACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA  
GGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTTGAACTCAGGCGCCCTGACCAGC  
15 GCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA  
GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT  
GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTG  
TGACAAAACACACATGTCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGGACC  
GTCAGTCTTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCC  
20 CTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGT  
TCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG

AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCA  
 GGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCC  
 AGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA  
 GGTGTACGTGTACCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCT  
 5 GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC  
 AATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGAC  
 GGCTCCTTCGCCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGG  
 GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCA  
 GAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

10

**SEQ ID NO: 454 (κДНК LC CD3W244)**

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGC  
 GTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGAGCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACC  
 AGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCAAAGCTGCTGATCTACTACGCCAGCGAGAGCA  
 15 TCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCC  
 GACCATCAGCAGCGTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAG  
 CGGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGTAC  
 GGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTG  
 GAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGT  
 20 ACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTAC  
 AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
 CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGG  
 CCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

**SEQ ID NO: 455 (κДНК LC CD3W245)**

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGC  
 GTGACCATCACCTGTCGTGCCCGCCAGAGCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACC  
 AGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCAAAGCTGCTGATCAAGTACGCCAGCGAGAGCA  
 TCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCC  
 30 GACCATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGC  
 GGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGTACG  
 GTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGG  
 AACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA  
 CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACA

GAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGC  
AAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC  
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

5 **SEQ ID NO: 456 (κДHK LC CD3W246)**

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGC  
GTGACCATCACCTGTCGTGCCCAGAGCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACC  
AGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCAAAGCTGCTGATCAAGTACGCCAGCGAGAGCA  
TCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCT  
10 GACCATCAGCAGCGTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAG  
CGGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGTAC  
GGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTG  
GAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGT  
ACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTAC  
15 AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG  
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGG  
CCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

**SEQ ID NO: 457 (κДHK LC CD3W247)**

20 GACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTCGGCGACCGC  
GTGACCATCACCTGTCGTGCCCAGAGCATCGGCACCGCCATCCACTGGTACC  
AGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCAAAGCTGCTGATCTACTACGCCAGCGAGAGCA  
TCAGCGGTGTGCCAAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCT  
GACCATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGC  
25 GGCAGCTGGCCATACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGTACG  
GTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGG  
AACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTA  
CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACA  
GAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGC  
30 AAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC  
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

**SEQ ID NO: 458 (κДНК LC CD3W248)**

GACATCTTGCTGACTCAGTCTCCAGGCATCCTGTCTGTGAGTCCAGGAGAAAGAG  
TCAGTTTCTCCTGCAGGGCCAGACAGAGCATTGGCACAGCCATACTGGTATCA  
GCAAAGAACAAATGGTTCTCCAAGGCTTCTCATAAAGTATGCTTCTGAGTCTATC  
5 TCTGGGATCCCTTCCAGGTTTAGCGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTACTCTTA  
CCATCAACAGTGTGGAGTCTGAAGATATTGCAGATTATTACTGTCAACAAAGTGG  
GAGCTGGCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAACGTACGGT  
GGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
CTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA  
10 GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGA  
GCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAA  
AGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCT  
GAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

**15 SEQ ID NO: 451 (κДНК HC CD3B376)**

CAGGTGCAGCTCCAACAGAGTGGTCCCAGACTCGTGAGACCCTCTCAAACACTCA  
GTTTGACTTGTGCCATCTCAGGCGATTCAGTTTTCAACAACAATGCAGCTTGGAG  
CTGGATTAGGCAGTCACCTAGTCGCGGTCTTGAATGGCTTGGGCGTACATACTAT  
CGCTCTAAATGGTTGTATGATTACGCTGTGTCCGTGAAGAGCCGAATCACCGTAA  
20 ACCCTGATACCTCCAGGAATCAGTTCACATTGCAACTGAATAGTGTGACTCCCGA  
GGATACTGCACTCTATTATTGTGCCCGAGGATATAGCAGTAGCTTCGACTATTGG  
GGACAAGGGACACTCGTTACCGTTAGTTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCT  
TCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTG  
CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGA ACTCAGGCGCC  
25 CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT  
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT  
CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCC  
CAAATCTTGTGACAAA ACTCACACATGTCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCAGCA  
GGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCT  
30 CCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTG  
AGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA  
AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG  
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACA  
AAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCC

GAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACC  
AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGA  
GTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT  
GGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGA  
5 TGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACC  
ACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

**SEQ ID NO: 499 (кДНК HC CD3B376)**

CAGGTGCAGCTCCAACAGAGTGGTCCCAGACTCGTGAGACCCTCTCAAACACTCA  
10 GTTTGACTTGTGCCATCTCAGGCGATTCAAGTTTTCAACAACAATGCAGCTTGGAG  
CTGGATTAGGCAGTCACCTAGTCGCGGTCTTGAATGGCTTGGGCGTACATACTAT  
CGCTCTAAATGGTTGTATGATTACGCTGTGTCCGTGAAGAGCCGAATCACCGTAA  
ACCCTGATACCTCCAGGAATCAGTTCACATTGCAACTGAATAGTGTGACTCCCGA  
GGATACTGCACTCTATTATTGTGCCCCGAGGATATAGCAGTAGCTTCGACTATTGG  
15 GGACAAGGGACACTCGTTACCGTTAGTTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCT  
TCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTG  
CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCC  
CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT  
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT  
20 CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCC  
CAAATCTTGTGACAAAACACTCACACATGTCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCAGCA  
GGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCT  
CCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTG  
AGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA  
25 AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG  
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACA  
AAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCC  
GAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACC  
AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGA  
30 GTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT  
GGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGA  
TGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACC  
ACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT

**SEQ ID NO: 459 (κДНК LC CD3B376)**

CAGTCTGCTCTGACCCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGCTCTCCCGGCCAGTCCATCAC  
 CATCAGCTGTACCGGCACCTCCTCCAACATCGGCACCTACAAGTTCGTGTCTGG  
 TATCAGCAGCACCCCGACAAGGCCCCCAAAGTGCTGCTGTACGAGGTGTCCAAGC  
 5 GGCCCTCTGGCGTGTCTCCAGATTCTCCGGCTCCAAGTCTGGCAACACCGCCTCC  
 CTGACCATCAGCGGACTGCAGGCTGAGGACCAGGCCGACTACCACTGTGTGTCTCT  
 ACGCTGGCTCTGGCACCCCTGCTGTTTGGCGGAGGCCACCAAGCTGACCGTGCTGGG  
 TCAGCCCAAGGCTGCACCCAGTGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTC  
 AAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGT  
 10 GACAGTGGCCTGGAAGGCCGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCAC  
 CACACCCTCCAAACAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCT  
 GACGCCTGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGA  
 AGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA

**15 SEQ ID NO: 452 (κДНК HC CD3B450)**

CAAGTGCAACTCCAACAAAGCGGCCAGGGCTGGTAAAGCCTTCACAGACCCTCT  
 CACTTACTTGCGCAATATCTGGGGACTCCGTGTTAATAACAATGCTGCATGGAG  
 CTGGATTCCGCCAGAGCCCAAGTCGCGGGCTCGAGTGGCTTGGTTCGAACCTATTAC  
 CGCTCCAAGTGGCTCTATGACTACGCAGTAAGCGTCAAATCACGGATAACAATCA  
 20 ACCCTGACACATCCAAGAATCAGTTTAGTCTGCAACTCAACTCAGTCACCCCTGA  
 GGATACCGCAGTGTATTATTGTGCCAGAGGGTACAGCTCTTCCTTTGATTACTGG  
 GGCCAAGGTACACTGGTAACAGTATCAAGC  
 GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCT  
 CTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGT  
 25 GACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT  
 GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCA  
 GCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACA  
 CCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGTC  
 CACCGTGCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCC  
 30 AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCTGAGGTCACATGCGTGGTG  
 GTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC  
 GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACG  
 TACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGG  
 AGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCA

TCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCCCATC  
 CCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTT  
 CTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA  
 CTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTGAGC  
 5 AAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG  
 TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCC  
 GGGTAAA

**SEQ ID NO: 460 (кДНК LC CD3B450)**

10 CAGTCTGCTCTGACCCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGCTCTCCCGGCCAGTCCATCAC  
 CATCAGCTGTACCGGCACCTCCTCCAACATCGGCACCTACAAGTTCGTGTCTGG  
 TATCAGCAGCACCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTGATGATCTACGAGGTGTCCAAG  
 CGGCCCTCCGGCGTGTCCAACAGATTCTCCGGCTCCAAGTCCGGCAACACCGCCT  
 CCCTGACAATCAGCGGACTGCAGGCCGAGGACGAGGCCGACTACTACTGTGTGTC  
 15 CTACGCCGGCTCTGGCACCTGTGTTTGGCGGCGGAACAAAGCTGACCGTGCTG  
 GGTCAGCCCAAGGCTGCACCCAGTGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGC  
 TTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGC  
 CGTGACAGTGGCCTGGAAGGCCGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGAC  
 CACCACACCCTCCAAACAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAG  
 20 CCTGACGCCTGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCA  
 TGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA

**SEQ ID NO: 453 (кДНК HC CD3B219)**

GAAGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCCGGAGGAAGCCTG  
 25 AGACTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTTACCTTCAACACCTACGCCATGAACTGGG  
 TGAGACAGGCCCCCGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGCGCCAGGATCAGGTCCAAGT  
 ACAACA ACTACGCCACCTACTACGCTGCCAGCGTGAAGGGCAGGTTCACCATCAG  
 CAGGGACGACAGCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAAGACCGA  
 GGACACCGCCGTGTACTACTGCGTGAGGCACGGAACTTCGGCAACAGCTACGT  
 30 GAGCTGGTTCGCCTACTGGGGCCAAGGCACACTGGTCAAGTGTCCAGCGCCTCC  
 ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGG  
 GCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGT  
 GTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTA  
 CAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCT

TGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG  
 TGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGTCCACCGTG  
 CCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCC  
 AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGAGCG  
 5 TGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG  
 TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTG  
 TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA  
 GTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA  
 GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACGTGTACCCCCCATCCCGGGAG  
 10 GAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA  
 GCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGA  
 CCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCGCCCTCGTGAGCAAGCTCAC  
 CGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT  
 GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT

15

**SEQ ID NO: 461 (кДНК LC CD3B219)**

CAGACCGTCGTGACCCAGGAACCTAGCCTGACCGTGTCTCCTGGCGGCACCGTGA  
 CCCTGACCTGCAGATCTTCTACAGGCGCCGTGACCACCAGCAACTACGCCAACTG  
 GGTGCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCTCCCAGAGGACTGATCGGCGGCACCAACAA  
 20 GAGAGCCCCTGGCACCCCTGCCAGATTCAGCGGATCTCTGCTGGGAGGAAAGGC  
 CGCCCTGACACTGTCTGGCGTGCAGCCTGAAGATGAGGCCGAGTACTACTGCGCC  
 CTGTGGTACAGCAACCTGTGGGTGTTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACAGTGCTGG  
 GTCAGCCCAAGGCTGCACCCAGTGTCACCTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTT  
 CAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGA CT TCTACCCGGGAGCCG  
 25 TGACAGTGGCCTGGAAGGCCGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCA  
 CCACACCCTCCAAACAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCC  
 TGACGCCTGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATG  
 AAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA

30 **Конструирование Fab-Fc HLA-G для получения биспецифического HLA-G/CD3**

Специфические области VH и VL HLA-G конструировали в формате VH-CH1-  
 шарнирная область-CH2-CH3 и VL-CL, соответственно. Полипептиды с **SEQ ID NO:**  
**462 или 494**, содержащие сайленсинг-мутации Fc L234A/L235A/D265S и мутации CH3  
 T350V/T366L/K392L/T394W, сконструированные для активации селективной

гетеродимеризации для получения HLA-G-специфичной последовательности VH-CH1-шарнирная область-CH2-CH3.

**SEQ ID NO: 462 (huIgG1\_G1m(17)\_AAS\_ZWB)**

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF  
 5 PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP  
 CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVIVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH  
 NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG  
 QPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVL  
 DSDGTSFGLYSKLTVDKSRWQQGNVFNFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10 **SEQ ID NO: 494**

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF  
 PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP  
 CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVIVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH  
 NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG  
 15 QPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVL  
 DSDGTSFGLYSKLTVDKSRWQQGNVFNFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

Полипептиды SEQ ID NO: 463 или 464 применяли для получения HLA-G-специфичной VL-CL.

20

**SEQ ID NO: 463 (легкая цепь карра человека)**

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPRKAKVQWKVDNALQSGNSQESVT  
 EQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

25 **SEQ ID NO: 464 (легкая цепь lambda человека)**

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTP  
 SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSQRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

30 Аминокислотные последовательности HC и LC Fab-Fc HLA-G представлены в  
 таблицах 42 и 43 соответственно. SEQ ID NO кДНК цепей HC и LC Fab-Fc HLA-G  
 перечислены в таблице 44.

**В таблице 42 представлены аминокислотные последовательности тяжелых цепей (HC) Fab-Fc антитела к HLA-G.**

Тяжелая цепь Fab-Fc	SEQ ID NO:	Аминокислотная последовательность
MHGB732-Fab-Fc HC	465	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYY RSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCAGDRRYGIVGLP FAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
MHGB738-Fab-Fc HC	466	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNRAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYY RSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVRGIPFDYW GQGTPTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
MHGB712-Fab-Fc HC	467	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNRAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYY RSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCARVRGIPFDYW GQGTPTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG

**В таблице 43 представлены аминокислотные последовательности легких цепей**

**5 (LC) Fab-Fc антитела к HLA-G.**

Легкая цепь Fab-Fc	SEQ ID NO:	Аминокислотная последовательность
MHGB732-Fab-Fc LC	468	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLTWFQKPGQPPKLLIYWA STRESGVPDRFSGSGSDFTFTLTISSLQAEDVAVYYCHQYYSTPPTFGQGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
MHGB738-Fab-Fc LC	469	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWA STRESGVPDRFSGSVSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYHSTPWTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
MHGB712-Fab-Fc LC	470	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQKPGQPPKLLIYWA STRESGVPDRFSGSVSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYHSTPWTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**В таблице 44 представлены последовательности кДНК легких цепей (LC) и тяжелых цепей (HC) Fab-Fc антитела к HLA-G.**

Fab-Fc	SEQ ID NO:	последовательность кДНК
MHGB732-Fab-Fc HC	471	CAAGTACAACCTGCAACAAAGTGGTCCTGGGCTCGTGAAGCCTTCCCAGACTCTCA GCCTCACATGCGCTATAAGTGGGGATTCTGTTTCCTCAAATTCAGCAGCCTGGAAT TGGATACGACAGTCTCCATCCCGTGGCCTTGAGTGGCTTGGTAGAACTTATTACCG ATCCAAGTGGTACAATGATTACGCCGTTTCAGTGAAGTCCCGCATTACTATTAATC CCGACACATCTAAGAATCAAATTTTCATTGCAACTGAATAGCGTAACACCCGAAGA TACAGCAGTTTATTATTGTGCAGGTGATCGACGCTACGGCATAGTGGGACTTCCTT TCGCCTATTGGGGCCAAGGGACACTGGTCACTGTGTCATCCGCCTCCACCAAGGGC CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGC CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGT CAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGTGCTTACAGTCCCTCAGGA CTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGAC CTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTT GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGTCCACCGTGCCAGCACCTGAAG CAGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCCTCATG ATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGAGCGTGAGCCACGAAGACC CTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC AAAGCCGCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGTCCCTCACC GTCCTGACACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACA AAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCG AGAACACAGGTGTACGTGCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAG GTCAGCCTGCTGTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACCTACCTGGCCTCCCGTGTGGAC TCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGTCAACCGTGGACAAGTCTAGATGGCA GCAGGGAAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACA CGCAGAAGAGCCCTCCTCCGTCTCCGGGT
MHGB732-Fab-Fc LC	472	GACATCGTAATGACACAGTCACCAGATTTCATTGGCAGTTAGTCTGGGTGAAAGGG CAACAATCAACTGCAAGTCTTCTCAGAGTGTACTGCATAGTTCTAACAATAAGAAC TACCTTACCTGGTTTCAACAGAAACCAGGTACAGCCCCCAAGTTGCTGATTTACTG GGCAAGCACCCGCGAATCCGGCGTTCCCGATCGATTTTCAGGTTCCGGGAGTGGG ACCGACTTTACCTTGACCATCTCTTCCCTGACAGGCCGAAGATGTAGCCGTCTATTA CTGCCATCAGTATTACTTACTCCCCCACATTCGGTCAAGGTACAAGTTGAGA TAAAACGGACAGTGGCCGCTCCTCCGTGTTTCATCTCCACCTCCGACGAGCAG CTGAAGTCCGGCACAGCTTCTGTGCTGTGCCTGCTGAACAACCTTACCCCTCGGGA AGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAAGAG TCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTCTCCACACTGA CCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGGTGTACGCTGCGAAGTGACCCA TCAGGGCCTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTTCAACCCGGGGCGAGTGT
MHGB738-Fab-Fc HC	473	CAGGTGCAGCTTCAACAGCGGACCTGGTCTGGTTAAGCCTTCCCAAACCCCTGA GCCTGACTTGTGCTATTTCCGGGATAGTGTAGCTCCAATAGGGCAGCAGTGAAC TGGATCAGACAGTCCCCAAGCCGTGGACTTGAGTGGCTTGGAGCTACTTATTACAG GAGTAAATGGTACAATGATTATGCCGTTTCTGTGAAGAGCCGTATTACTATAAACC CAGATACTTCTAAAAATCAAATTTCCCTTCAGCTCAACTCAGTTACACCAGAGGAT ACTGCAGTCTATTATTGCGCAAGAGTTCGACCTGGCATTCCCTTCGATTATTGGGG GCAGGGGACACCCGTTACTGTGTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCC CCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCCTG ACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGTGCTTACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCT CAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAA TCTTGTGACAAAACCTCACACATGTCCACCGTCCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGG GACCGTCAGTCTTCCCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGG ACCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGAGCGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCCGC GGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCAGCCTCAGGACTCTG CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAGCCCTCC CAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGTACGTGCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG CTGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACCTCACCTGGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGG

		CTCCTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGA ACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAG AGCCTCTCCCCTGTCTCCGGGT
MHGB738- Fab-Fc LC	474	GATATTGTTATGACACAGTCCCCAGATTCATTGGCAGTAAGCCTCGGTGAACGGGC TACTATTAAGTGTAAAGTCTTCCCAGAGTGTATTGTTCTCTTCAAATAACAAAAACT ACCTGGCATGGTATCAGCAAAAAGCCTGGTCAACCCCTAAACTTCTCATATACTGG GCATCCACTCGGGAGAGCGGTGTGCCAGACCGTTTCTCAGGGAGTGTGTCAGGTA CAGATTTTACACTCACAATTTCCAGCCTCCAAGCCGAAGACGTTGCAGTATATTAT TGCCAACAATATCACTCTACACCTTGGACATTTGGTCAAGGTAATAAGTTCGAAAT CAAACGGACAGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTTCATCTTCCCACCTTCCGACGAGCAGC TGAAGTCCGGCACAGCTTCTGTCTGTGCTGCTGCTGAACAACCTTACCCTCGGGAA GCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAAGAGT CTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTCTCCCACTGAC CCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAGTGACCCAT CAGGGCCTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTCAACCGGGGGCGAGTGT
MHGB712- Fab-Fc HC	475	CAGGTGCAGCTTCAACAGAGCGGACCTGGTCTGGTTAAGCCTTCCCAACCCCTGA GCCTGACTTGTGCTATTTCCGGGGATAGTGTTAGCTCCAATAGGGCAGCATGGAAC TGGATCAGACAGTCCCCAAGCCGTGGACTTGAGTGGCTTGGACGTAATTATTACAG GAGTAAATGGTACAATGATTATGCCGTTTCTGTGAAGAGCCGTATTACTATAAACC CAGATACTTCTAAAAAATCAAATTTCCCTTTCAGCTCAACTCAGTTACACAGAGGAT ACTGCAGTCTATTATTGCGCAAGAGTTTCGACCTGGCATTCCCTTCGATTATTGGGG GCAGGGGACACCCGTTACTGTGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCC CCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTG ACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCAGGACTTACTCCCT CAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAA TCTTGTGACAAAACCTCACACATGTCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCAGCAGGGG GACCGTCAGTCTTCTTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCG GGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCCTCCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAACAAAGCCCTCC CAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCCACA GGTGTACGTGCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTG CTGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACCTCACCTGGCCTCCCGTGTGACTCCGACGG CTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGTCTAGATGGCAGCAGGGGA ACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAG AGCCTCTCCCCTGTCTCCGGGT
MHGB712- Fab-Fc LC	476	GATATTGTTATGACACAGTCCCCAGATTCATTGGCAGTAAGCCTCGGTGAACGGGC TACTATTAAGTGTAAAGTCTTCCCAGAGTGTATTGTTCTCTTCAAATAACAAAAACT ACCTGGCATGGTATCAGCAAAAAGCCTGGTCAACCCCTAAACTTCTCATATACTGG GCATCCACTCGGGAGAGCGGTGTGCCAGACCGTTTCTCAGGGAGTGTGTCAGGTA CAGATTTTACACTCACAATTTCCAGCCTCCAAGCCGAAGACGTTGCAGTATATTAT TGCCAACAATATCACTCTACACCTTGGACATTTGGTCAAGGTAATAAGTTCGAAAT CAAACGGACAGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTTCATCTTCCCACCTTCCGACGAGCAGC TGAAGTCCGGCACAGCTTCTGTCTGTGCTGCTGCTGAACAACCTTACCCTCGGGAA GCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAAGAGT CTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTCTCCCACTGAC CCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAGTGACCCAT CAGGGCCTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTCAACCGGGGGCGAGTGT

### Конструирование scFv-Fc HLA-G для получения биспецифического HLA-G/CD3

Области VH/VL HLA-G, конструированные как scFv в ориентации VH-линкер-VL или VL-линкер-VH с применением линкера SEQ ID NO: 8 (таблица 1), как описано в примере 2, дополнительно сконструировали в формате scFv-шарнирная область-CH2-CH3, содержащем сайленсинг-мутацию Fc (L234A/L235A/D265S) и мутации T350V/T366L/K392L/T394W, сконструированные для активации селективной

гетеродимеризации и экспрессированные как IgG1. Полипептиды с **SEQ ID NO: 477** или **495** применяли в качестве константного домена шарнирной области-CH2-CH3.

**SEQ ID NO: 477 (huIgG1\_G1m (17)-шарнирная область-**

5 **Fc\_C220S\_AAS\_ZWB)**

EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVVSVSHE  
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKKVS  
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE  
SNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ  
10 KSLSLSPG

**SEQ ID NO: 495**

EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVVSVSHE  
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKKVS  
15 NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE  
SNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ  
KSLSLSPGK

20 Аминокислотные последовательности молекул антитела к HLA-G в формате scFv-шарнирная область-CH2-CH3 (scFv-Fc) представлены в **таблице 45**.

Последовательности кДНК молекул антитела к HLA-G в формате scFv-шарнирная область-CH2-CH3 (scFv -Fc) приведены в **таблице 46**.

25 **Таблица 45. Аминокислотные последовательности биспецифических плеч scFv-Fc антитела к HLA-G.**

scFv-Fc	SEQ ID NO:	Аминокислотная последовательность
МНGB732-LH-scFv-Fc, без C-концевых Lys	478	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLHSSNNKNYLTWFQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFLTITSLQAEDVAVYYCHQYYSTPPTFGQGTKVEIKGGSEGK SSGSGSESKSTGGSQVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRG LEWLGRTYYRSKWNIDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCAGDRR YGIVGLPFAYWGQGLTVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVTVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
МНGB732-LH-scFv-Fc	490	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLHSSNNKNYLTWFQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFLTITSLQAEDVAVYYCHQYYSTPPTFGQGTKVEIKGGSEGK SSGSGSESKSTGGSQVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRG LEWLGRTYYRSKWNIDYAVSVKSRITINPDTSKNQISLQLNSVTPEDTAVYYCAGDRR

		YGIVGLPFAYWGQGLVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVYVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
MHGB737-LH-scFv-Fc	479	DIQMTQSPSTLSASVGDRTVITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESQVPSRFGSGSGTEFTLTISSLQPDFFATYYCQQYNSYSLTFGGGTKVDIKGGSEGKSSGSGSES KSTGGSEVQLLESQGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISGSGFSTYYVDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKDNLVAGTVFDYWGQGLVTVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVYVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYLTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

**Таблица 46. Последовательности кДНК биспецифических плеч scFv-Fc антитела к HLA-G.**

scFv-Fc	SEQ ID NO:	последовательность кДНК
MHGB732-scFv-LH-Fc	480	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACAGCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGAGCTACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGTCCGTGCTGCACTCCTCCAACAACAAGAACTACCTGACCTGGTTCCAGCAGAAAGCCCGGCCAGCCTCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCTCCACCCGCGAGTCTGGTGTGCCCGATAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACC GACTTTACCCTGACAATCAGCTCCCTGCAGGCCGAGGATGTGGCCGTGTA CTGACCACAGTACTACAGCACCCCTCCTACCTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGGGCGGATCTGAGGGAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCCAGGTTCCAGCTGCAGCAGTCTGGCCCTGGACTGGTCAAGCCCTCTCAGACCCTGTCTGACCTGTGCCATCTCCGGCGACTCCGTGCTCTAATTCTGCCGCTGGAAGTGGATCCGGCAGTCTCCTAGTAGAGGCCTGGAATGGCTGGGCAGAACCTACTACCGGTCCAAGTGGTACAACGACTACGCCGTGTCCTGAAAGTCCCGGATCACCATCAATCCCGACACCTCCAAGAACCAGATCTCCCTGCAGCTCAACAGCGTGACCCCTGAGGATACCGCCGTGTA TACTGTGCCGGCGATCGGAGATATGGCATGTGGGCTGCTTTTGTACTGGGGACAGGGCACACTGGTCAACGTTTCTGA GCCCAAATCTAGCGACAAAACCTCACACTTGTCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCAGAGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAAGCACCCCTGATCTCCCCGAGCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGAGCGTACCGCACCAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTGCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACGTGCTGCCCCATCCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGCTGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGATGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACCTACCTGACCTCCCCGTGGACTCGACCGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGTCTCTCTCCCTGTCTCCGGGA
MHGB737-LH-scFv-Fc	481	gatattcagatgacccaatccccagtagccttagtgtagtggtggagaccgagtgaccattacctgcagagcatccaatccataaagctcctggctgcctgtatcagcaaaagccaggcaagcaccctaaagctgcttattacaagcaccctcattggagtcggcgtaccctcaggtttctctggctcaggctcgggacagagttacattgaccatcctagccttagccagatgactttgclacataactattgcaacaataaagcagctactctgacctcgggggtgggacaaagtgatattaaagcggctccgagggcaagcagcggcagcggcagcgagagcaagagcaccggcgagcgaagccaactcttgagagtggtggtggcctctccagcaggaggttctcicccggctcactgtgctgaagtgcttactttagctcttacgcatgactgggtgagcagcagcctccgggaagggtcttgagtggtgctgtgataagtggtcaggctttcaactactatgctgattccgcaagggcgggttacaattcaaggacaattcaagaatacactgtatctccaaatgaatgtctcagagccgaagataccgcttactactgcgcaaaagataatctgtgctgggactgtctcactattgggtcagggtacattgtaaccgtaagtagtgagccaatctagcgacaaaactcacacatgtccaccgtgccagcactgaagcagcaggggaccgtaagcttctctcccccaaaaggaacacctcatgatctcccggacccctgaggcactgctggtggtgagcgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaagccgcgggaggagcagtaacaagcagctaccgtggcagcgtcctaccctcctgaccaggactggctgaatggcaaggagtagcaaggtcctcaaacaaagccctccagccccatcgagaaaacatctccaagccaagggcagccccgagaaccacaggtgtagctgctccccatccccggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgctgtcctggtcaaaagccttctatcccagcagatcgccgtggagtgaggagcaatggcagccggagaacaactcactcagctggcctcccgtgctgactccgacggctccttctctacagcaagctcaccgtggacaagcttagatggcagcaggggaactcttctcatgctccgtgatgatgaggctctgcacaaccaactacgcagaagagccttccctct

		ccgggt
МНGB732-scFv-LH-Fc	498	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACAGCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGAGCTACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGTCCCGTGTGCACTCCTCCAACAACAAGAACTACCTGACCTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCTCCTAAGCTGCTGATCTACTGGGCTCCACCCGCGAGTCTGGTGTGCCCGATAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTTACCCTGACAATCAGCTCCCTGCAGGCCGAGGATGTGGCCGTGTACTACTGCCACCAGTACTACAGCACCCCTCTACCTTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGGGCGGATCTGAGGGAAGTCCAGCGGCTCCGGCAGCGAAAGCAAGTCCACCGGCGGAAGCCAGGTTCACTGCAGCAGTCTGGCCCTGGACTGGTCAAGCCCTCTCAGACCCTGTCTCTGACCTGTGCCATCTCCGGCGACTCCGTGTCTCTAATTCTGCCGCTGGAAGTGGATCCGGCAGTCTCCTAGTAGAGGCCCTGGAATGGCTGGGCAGAACCTACTACCGGTCCAAGTGGTACAACGACTACGCCGTGTCCGTGAAGTCCCGGATCACCATCAATCCCAGACCTCCAAGAACCAGATCTCCCTGCAGCTCAACAGCGTGACCCCTGAGGATACCGCCGTGTACTACTGTGCCGGCGATCGGAGATATGGCATGTGGGCTGCCTTTTGTACTGTTACTGGGGACAGGGCACACTGGTCAACGTTTCTTCTGACCCAAATCTAGCGACAAAACCTCACACTTGTCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCAGAGGGGACCGTCACTTCTCTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGAGCGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCGTCTTGCAACCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACGTGCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAAGCCTGTGTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGGACGCCGAGACAACACTACCTACCTGGCCTCCCGTGTGGACTCGACGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGTCTCTCCCTGTCTCCGGAAAA

### Биспецифические HLA-G x CD3

Области VH/VL антител к CD3 CD3B376, CD3B450, CD3B219 и CD3W246, сконструированные в виде Fab-Fc, и области VH/VL антител к HLA-G МНGB738, МНGB732 и МНGB737, сконструированные в виде scFv-Fcs в ориентациях как HL, так и LH, как описано выше, экспрессировали с получением биспецифических антител, что дало биспецифические антитела HLA-G/CD3 с плечом связывания HLA-G в формате scFv-шарнирная область-CH2-CH3 и плечом связывания CD3 в формате: тяжелая цепь: VH-CH1-линкер-CH2-CH3 и легкая цепь: VL-CL (таблица 47). Плечо B23B62-Fab-Fc применяли в качестве изотипического контроля для CD3-специфического плеча.

Альтернативно, области VH/VL антител к CD3 CD3W246, CD3B450 и CD3B219, сконструированные в виде scFv-Fcs в ориентациях HL и/или LH (см. таблицу 47), и области VH/VL антител к HLA-G МНGB738, МНGB732 и МНGB737, сконструированные в виде Fab, как описано выше, экспрессировали с получением биспецифических антител, что дало биспецифические антитела HLA-G/CD3 с плечом связывания HLA-G в формате тяжелой цепи VH-CH1-линкер-CH2-CH3 и легкой цепи VL-CL и плечом связывания CD3 в формате scFv-шарнирная область-CH2-CH3.

Линкер, применяемый для получения антител к scFv, представляет собой линкер SEQ ID NO: 8 (таблица 47).

Мутации T350 V\_L351Y\_F405A\_Y407 V CH3 были сконструированы в одну тяжелую цепь, а мутации T350 V\_T366L\_K392L\_T394W CH3 были сконструированы в другую тяжелую цепь, как описано выше. Кроме того, оба связывающих плеча НК2 и CD3 были сконструированы таким образом, чтобы содержать молчащие мутации

5 L234A\_L235A\_D265S Fc-эффектора, как описано выше.

Сконструированные цепи экспрессировали, а полученные биспецифические конструкции очищали с применением стандартных способов. Характеристики биспецифических конструкций определяли по их связыванию с HLA-G и CD3, их цитотоксичности *in vitro*, ответу иммунной контрольной точки и эффективности *in vivo*, как описано в примерах 11–13.

10

**Таблица 47. Биспецифические HLA-G x CD3.**

<u>Название биспецифического соединения</u>	<u>Плечо к CD3</u>	<u>Плечо к CD3 SEQ ID NO:</u>	<u>Плечо к HLA-G</u>	<u>Плечо к HLA-G SEQ ID NO:</u>
HC3B239	null-scFv-Fc	413	MHGB738-Fab-Fc	HC: 466 LC: 469
HC3B238	CD3W246-HL-scFv-Fc	405	MHGB738-Fab-Fc	HC: 466 LC: 469
HC3B237	CD3W246-LH-scFv-Fc	406	MHGB738-Fab-Fc	HC: 466 LC: 469
HC3B236	CD3B450-LH-scFv-Fc	411	MHGB738-Fab-Fc	HC: 466 LC: 469
HC3B235	CD3B219-LH-scFv-Fc	412	MHGB738-Fab-Fc	HC: 466 LC: 469
HC3B234	null-scFv-Fc	413	MHGB732-Fab-Fc	HC: 465 LC: 468
HC3B233	CD3W246-HL-scFv-Fc	405	MHGB732-Fab-Fc	HC: 465 LC: 468
HC3B232	CD3W246-LH-scFv-Fc	406	MHGB732-Fab-Fc	HC: 465 LC: 468
HC3B231	CD3B450-LH-scFv-Fc	411	MHGB732-Fab-Fc	HC: 465 LC: 468
HC3B230	CD3B219-LH-scFv-Fc	412	MHGB732-Fab-Fc	HC: 465 LC: 468
HC3B128	B23B62-Fab-Fc	HC: 482 LC: 483	MHGB732-LH-scFv	478
HC3B125	CD3B376-Fab-Fc	HC: 489 LC: 447	MHGB732-LH-scFv-Fc	478
HC3B258	CD3B376-Fab-Fc	HC: 439 LC: 447	MHGB732-LH-scFv-Fc	490
HC3B124	CD3B219-Fab-Fc	HC: 441 LC: 449	MHGB732-scFv-Fc	478
HC3B123	CD3W246-Fab-Fc	HC: 438 LC: 444	MHGB732-LH-scFv-Fc	478
HC3B225	B23B62-Fab	HC: 482 LC: 483	MHGB737-scFv-Fc	479
HC3B216	CD3B376-Fab-Fc	HC: 439 LC: 447	MHGB737-scFv-Fc	479
HC3B214	CD3W246-Fab-Fc	HC: 438 LC: 444	MHGB737-scFv-Fc	479

**Пример 11. Форматирования бсАт и испытания *in vitro***

15

Перенаправление Т-клеток к опухолевым клеткам показало значительные перспективы в клинике, и авторы изобретения задались вопросом, будет ли

биспецифическое антитело (бсАт), нацеленное на HLA-G и субъединицу CD3 комплекса Т-клеточного рецептора, проявлять цитотоксичность в отношении опухолевых клеток, экспрессирующих HLA-G. Ведущие  $\nu$ -области были отформатированы как бсАт с серией плеч перенаправления связывания CD3 (таблица 48). Вкратце, клетки-мишени (NCI-H2009-b2m) в количестве 50 000 клеток на лунку инкубировали с антителами в концентрациях, начиная с 10 нМ, и серийно по поллогарифма на лунку. Добавляли очищенные первичные Т-клетки в соотношении 3:1 и смесь инкубировали в течение 72 ч при 37 °С. Окрашивающий раствор готовили с добавлением красителя LIVE/DEAD для ближнего ИК-диапазона (окрашивание мертвых клеток, L34976, Invitrogen) при 1 мкл на  $10^6$  клеток и бриллиантового фиолетового антитела CD25 (Biolegend, кат. № 302630) при 5 мкл на  $10^6$  клеток в буфере для окрашивания FACS BD. Смеси клеток диссоциировали с помощью аккутазы перед дополнительным анализом с помощью проточной цитометрии. Клетки гейтировали по FSC-A по сравнению с SSC-A и CFSE (BL-1) по сравнению с SSC-A, а нежизнеспособные опухолевые клетки идентифицировали по общей популяции опухолевых клеток-мишеней для CFSE (BL-1) по сравнению с гейтированием живых/мертвых клеток в ближней ИК-области (RL2-H). Данные анализировали с применением расширенных показателей ForeCyt (Sartorius) для расчета цитотоксичности опухоли. Все бсАт продемонстрировали способность усиливать цитотоксичность, опосредованную Т-клетками, когда связывающая HLA-G  $\nu$ -область была соединена с плечом связывания CD3 со значениями EC50, которые коррелировали с аффинностями связывания как плеча, нацеливающего на HLA-G, так и плеча, нацеливающего на CD3 (таблица 48).

Таблица 48. Конструкции бсАт и цитотоксичность

<u>Название бсАт</u>	<u>Плечо к CD3</u>	<u>Плечо к HLA-G</u>	<u>Цитотоксичность, EC50 (M)</u>
HC3B239	null-scFv-Fc	MHGB738-Fab-Fc	Н/П
HC3B238	CD3W246-HL-scFv-Fc	MHGB738-Fab-Fc	1.72542E-11
HC3B237	CD3W246-LH-scFv-Fc	MHGB738-Fab-Fc	1.32773E-10
HC3B236	CD3B450-LH-scFv-Fc	MHGB738-Fab-Fc	4.53748E-09
HC3B235	CD3B219-LH-scFv-Fc	MHGB738-Fab-Fc	8.37E-11
HC3B234	null-scFv-Fc	MHGB732-Fab-Fc	Н/П
HC3B233	CD3W246-HL-scFv-Fc	MHGB732-Fab-Fc	Н/П
HC3B232	CD3W246-LH-scFv-Fc	MHGB732-Fab-Fc	6.77438E-12
HC3B231	CD3B450-LH-scFv-Fc	MHGB732-Fab-Fc	1.26465E-10
HC3B230	CD3B219-LH-scFv-Fc	MHGB732-Fab-Fc	9.91577E-12
HC3B128	B23B62-Fab	MHGB732-LH-scFv	Нет данных
HC3B125	CD3B376-Fab-Fc, без C-концевого Lys	MHGB732-LH-scFv-Fc, без C-концевого Lys	5.65197E-11
HC3B258	CD3B376-Fab-Fc	MHGB732-LH-scFv-Fc	Связывание такое же, как у

			НСЗВ125
НСЗВ124	CD3B219-Fab-Fc	МНGB732-scFv-Fc	3.849E-12
НСЗВ123	CD3W246-Fab-Fc	МНGB732-LH-scFv-Fc	3.24183E-12
НСЗВ225	B23B62-Fab	МНGB737-scFv-Fc	Нет данных
НСЗВ216	CD3B376-Fab-Fc	МНGB737-scFv-Fc	1.8984E-09
НСЗВ214	CD3W246-Fab-Fc	МНGB737-scFv-Fc	1.37611E-10

БсАт были дополнительно испытаны на их способность опосредовать активацию Т-клеток и цитотоксичность на основе Т-клеток в отношении дополнительных клеточных линий: Нур-Т3 и RERF-LC-Ad-1 (Фиг. 15А–15Г). На Фиг. 15А–15Г показана цитотоксичность, опосредованная НСЗВ125, в отношении опухолевых клеток, экспрессирующих HLA-G.

Два бсАт, НСЗВ125 и НСЗВ258, отличались только наличием (НСЗВ258) или отсутствием (НСЗВ125) кодона для экспрессии С-концевого лизина, К447, в тяжелой цепи. Поскольку С-концевой лизин тяжелой цепи антител обычно подвергается протеолитическому процессингу, два антитела демонстрировали идентичные масс-спектры (таблица 49). Кроме того, они демонстрировали идентичные биофизические свойства, такие как термостабильность и аффинность связывания как с Т-клетками, так и с клетками К562-HLA-G. Кроме того, НСЗВ258 проявляло такие же свойства цитотоксичности, как и НСЗВ125 (Фиг. 16).

**Таблица 49. Сравнение биофизических свойств НСЗВ125 и НСЗВ258.**

Молекула	Эксп. Масса (Да)	Kd (нМ)	Tonset	Tm1	Tm2	Tagg	Связывание с Т-клетками (EC50, М)	Связывание с клетками К562-HLA-G (EC50, М)
НСЗВ258	128 772,4	13 ± 1,2	55,0 °С	63,0 °С	81,1 °С	63,9 °С	6.0E-08	1.1E-08
НСЗВ125	128 772,5	11 ± 0,5	55,3 °С	63,6 °С	81,3 °С	65,3 °С	6.0E-08	1.2E-08

### Пример 12. Наблюдение за ответом иммунной контрольной точки

Наблюдали, что мАт к HLA-G, механизм цитотоксичности которых характеризуется эффекторной функцией (например, ADCC) и бсАт CD3 x HLA-G, могут индуцировать гибель всех типов клеток, экспрессирующих HLA-G. Опухоли часто ускользают от иммунного контроля за счет активизации определенных модуляторов иммунных контрольных точек, которые могут ингибировать иммунные клетки, такие как PD-L1 или CTLA-4<sup>9</sup>. Таким образом, авторы изобретения задались вопросом, может ли нацеливание на раковые клетки цитотоксичности, опосредованной Т-клетками, с помощью бсАт CD3 x HLA-G преодолеть экспрессию модуляторов иммунных контрольных точек на опухолевых клетках. Авторы изобретения измерили,

экспрессируют ли опухолевые клетки, экспрессирующие HLA-G, лиганды иммунных контрольных точек (**таблица 50**). Вкратце, клетки культивировали, как в примере 11, а затем окрашивали коммерчески доступными антителами, нацеленными на рецепторы, указанные в **таблице 50**. Флуоресценцию измеряли с применением проточной цитометрии для определения относительных уровней экспрессии каждого рецептора. Интересно, что по наблюдениям авторов изобретения клетки RERF-LC-Ad1 экспрессировали PD-L1 на уровнях, значительно более высоких, чем другие клетки-мишени, и что бсАт CD3 x HLA-G все еще могли опосредовать основанную на Т-клетках цитотоксичность в отношении клеток RERF-LC-Ad1 (**Фиг. 15А–15Г**). Авторы изобретения наблюдали, что антитела по настоящему описанию, нацеленные на домен  $\alpha 3$  HLA-G, на опухолевых клетках для цитотоксичности, основанной на Т-клетках, могут преодолевать экспрессию лиганда иммунной контрольной точки на опухолевых клетках.

**Таблица 50. Комплексный анализ экспрессии антигена иммунных контрольных точек на опухолевых клетках, экспрессирующих HLA-G**

Название лиганда/название клеточной линии	Кратность сигнала по сравнению с отрицательным контролем				
	RERF-LCAd1	JEG-3	HUP-T3	BICR6	HCC1806
PD-L1(CD274, B7-H1)	43	7	9		
PD-L2(CD273, B7-DC)	2	1	2		
Нектин-1 (CD111, PVRL1)	2	1	1		
Рецептор полиовируса (CD155)	18	1	23		
HVEM (CD270, TNFRSF14)	3	1	1		
B7H3(CD276)	21	9	1		
Галектин-9	1	2	3		
B7-1 (CD80, CD28L)	1	1	1		
MICA/B	6		2		11
ULBP1	1		1		1
ULBP2/5/6	2		2		10
ULBP3	3		2		6
ULBP4	2		1		1
NKG2D-Fc	1		1		1
NKp46-Fc	1		1		1
NKp44-Fc	1		1		1
NKp30-Fc	1		1		1
CD46	1	5	9	12	
CD55	141	73	21	15	
CD59	78	15	291	120	

Цитотоксичность на основе Т-  
клеток *in vitro*

	Да	Нет	Да	Да	
		Нор-			
Фон ADCC <i>in vitro</i>	нормально	мально	нормально	нормально	нормально
		Частич-	не	не	
CDC <i>in vitro</i>	Нет	но	исследован	исследован	не исследован

### Пример 13. Эффективность *in vivo*

В то время как корреляция между экспрессией HLA-G у пациентов и неблагоприятным прогнозом была установлена для большинства типов рака, непосредственная роль HLA-G в ускользании опухоли *in vivo* до сих пор не продемонстрирована. Мышиные гомологи HLA-G, а также ИЛТ-2 отсутствуют, поэтому для исследования роли HLA-G необходимы модели ксенотрансплантатов и гуманизированные мыши.

Ат и бсАт испытывали на их способность опосредовать противоопухолевую эффективность *in vivo* в серии исследований на мышах. Исследование, представленное на (Фиг. 17А–17Б, в таблице 51), состояло из эксперимента по эффективности с моделью опухоли поджелудочной железы PAXF 1657 (Charles River Discovery Research Services Germany GmbH), имплантированной подкожно гуманизированным самкам мышей hNSG-SGM3 (NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup> Tg(CMV-IL3, CSF2, KITLG) из лаборатории Jackson Laboratory. Мыши, которым были привиты гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) CD34<sup>+</sup>, полученные из пуповинной крови человека, от трех разных доноров (№ 2595, № 2597 и № 5867), были проверены дистрибьютором животных на достаточную степень привития ГСК (> 25% человеческих клеток CD45<sup>+</sup>) через 10–11 недель после привития. Опухоли PAXF 1657 имплантировали через 18 суток после поступления, а степень привития повторно проверяли за 2 суток до рандомизации. Эксперимент включал восемь групп по 10 или 11 мышей с одной опухолью PAXF 1657 у каждой. Абсолютные объемы опухоли (АТV) определяли с помощью двухмерного измерения цифровым штангенциркулем (S\_Cal EVO Bluetooth, Швейцария) в сутки рандомизации, а затем два раза в неделю. Объемы опухолей рассчитывали по формуле: Объем опухоли =  $(l \times w^2) \times 0,5$ , где  $l$  = наибольший диаметр, а  $w$  = ширина (перпендикулярный диаметр) опухоли (в мм). При объемах опухолей от 46,7 мм<sup>3</sup> до 117,7 мм<sup>3</sup> мышей распределяли по восьми группам, стремясь к сопоставимым средним и медианным объемам опухолей в группе, одновременно обеспечивая максимально возможное равномерное распределение среди групп мышей,

гуманизированных с помощью HSC от трех доноров. Каждое антитело оценивали при двух или трех уровнях дозы и вводили в сутки 0, 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24 (внутривенно, 2 раза в неделю). Противоопухолевую эффективность всех групп оценивали с применением контрольной группы, получавшей носитель, в качестве эталона.

- 5 Ингибирование роста опухоли (TGI) определяли в конце периода лечения путем сравнения изменений объемов опухолей в испытуемых группах по отношению к изменениям в контрольной группе и выражали как дельта-значение TGI (обозначается в тексте как TGI) в процентах. TGI рассчитывали с применением абсолютных объемов опухоли по следующей формуле: Дельта TGI<sub>x</sub> [%] = (1 – Среднее (T<sub>x</sub> - T<sub>0</sub>) / Среднее (C<sub>x</sub> - C<sub>0</sub>)) × 100, где T<sub>0</sub> и C<sub>0</sub> представляют собой абсолютные объемы опухоли в
- 10 испытуемой и контрольной группе в начале лечения (т. е. в сутки рандомизации), а T<sub>x</sub> и C<sub>x</sub> — соответствующие абсолютные объемы опухоли в конце периода лечения. Это были сутки 25 данного исследования. Эксперимент был прекращен в сутки 27.
- 15 HСЗВ125 значительно ингибировал рост модели опухоли PAXF 1657 у мышей hNSG-SGM3. Ингибирование роста опухоли по сравнению с контрольной группой, получавшей носитель, было статистически значимым для всех трех оцениваемых
- 20 уровней доз (критерий Крускала-Уоллиса в сочетании с апостериорным тестом Данна, таблица 50). Опухоли полностью регрессировали у 6/11 животных в группах, получавших 0,002 мг, у 8/11 животных, получавших 0,006 мг, и у 9/11 животных, получавших 0,02 мг HСЗВ125. В конце эксперимента было 6/7/6 выживших без
- опухолей в группах, получавших 0,002 мг/0,006 мг/0,02 мг HСЗВ125, соответственно.

Рост опухоли не ингибировался HСЗВ128 ни при одном из испытанных уровней доз. Хотя при более высоких дозах HСЗВ128 наблюдалось небольшое уменьшение среднего объема опухоли в группе по сравнению с контрольной группой, различия не

25 были статистически значимыми (таблица 50).

**Таблица 51. Статистика эффективности модели PDX поджелудочной железы**

ID группы	Лечение <sup>1</sup>	Уровень дозы [мг/сутки]	График [сутки]	Способ	Дельта TGI [%] (сутки) <sup>2</sup>	Регрессии <sup>3</sup>			Td [сутки]	Tq [сутки]
						ЧР	ПР	TFS		
<b>Модель опухоли PAXF 1657 – Exp. S317h</b>										
1	Контрольный носитель	0,1 мл/дозу	0,3,7,10,14,17,21,24	в/в	н/п	0	0	0	7,2	12,6
2	HСЗВ128.004	0,02	0,3,7,10,14,17,21,24	в/в	8,4 (25)	0	0	0	8,9	13,5

3	НСЗВ128.004	0,2	0,3,7,10,14,17,21,24	в/в	16,2 (25)	0	0	0	9,7	15,3
4	НСЗВ125	0,002	0,3,7,10,14,17,21,24	в/в	98,5 (25)	2	6	6	н.д.	н.д.
5	НСЗВ125	0,006	0,3,7,10,14,17,21,24	в/в	104,4 (25)	3	8	7	н.д.	н.д.
6	НСЗВ125	0,02	0,3,7,10,14,17,21,24	в/в	97,9 (25)	1	9	6	н.д.	н.д.

н/п = неприменимо; н.д. = не достигнуто (т. е. групповое среднее значение RTV всегда < 200%/400%)

Носитель для антител: PBS

- 5 <sup>2</sup> Дельта-значения TGI в каждой группе рассчитывали в первые сутки измерения после последнего лечения в режиме 2QW (сутки 25) в соответствии с формулой, приведенной в разделе «Ингибирование роста опухоли». Дополнительные значения TGI, T/C и регрессии опухоли см. в приложении 1.
- 10 <sup>3</sup> Частичную (ЧР) и полную регрессию (ПР) определяли в соответствии с разделом «Уменьшение объема опухоли». TFS: выживший без опухоли; Td, время удвоения опухоли; tq, время учетверения опухоли.

Лечение НСЗВ125 также может приводить к ингибированию роста опухоли в модели ксенотрансплантата из клетки (CDX), полученного из клеточной линии HuP-T3 (Фиг. 18, таблица 52). Исследование состояло из эксперимента по эффективности с моделью опухоли поджелудочной железы HuP-T3 (Sigma-Aldrich), имплантированной подкожно (10<sup>6</sup> клеток/мышь в 50% Cultrex (R&D Systems)) мышам, гуманизированным Т-клетками NSG (Jackson Laboratories). Эксперимент включал шесть групп по 10 мышей с одной опухолью HuP-T3 в каждой. На сутки 7 при объемах опухоли от 75 мм<sup>3</sup> до 150 мм<sup>3</sup> мышей рандомизировали на шесть групп, стремясь получить сопоставимые средний и медианный объемы опухоли в группе. Мышам внутрибрюшинно прививали Т-клетки (20<sup>6</sup> клеток/мышь, 0,2 мл/животное; Донор Т-клеток ALLCELLS 6093) после рандомизации в те же сутки, в которые проходила рандомизация. Антитело НСЗВ125 оценивали при пяти уровнях доз.

25 Противоопухолевую эффективность всех групп оценивали с применением группы, получавшей NullxCD3, в качестве эталона. Лечение начинали через 1 сутки после привития Т-клеток и осуществляли в сутки 8, 11, 14, 17, 21, 24, 28, 31, 35, 38, 42, 48 (внутрибрюшинно, 2 раза в неделю). Ингибирование роста опухоли определяли в конце периода лечения путем сравнения изменений средних объемов опухоли в испытываемых группах по сравнению с изменениями в контрольной группе, получавшей NullxCD3, и выражали в виде дельта-значения TGI (обозначается в тексте как TGI) в процентах.

30 Сутки 42 после имплантации опухоли применяли как последние сутки для расчетов

TGI. Эксперимент был прекращен в сутки 46. HC3B125 значительно ингибировал рост модели опухоли NuPT3 у мышей hNSG. Ингибирование роста опухоли по сравнению с контрольной группой, получавшей терапию NullxCD3, было статистически значимым для всех пяти оцениваемых уровней доз (таблица 52).

5

**Таблица 52. Статистика эффективности модели NuP-T3**

Группа	Конструкция	Доза/животное	%ΔTGI (сутки 42)	Отсутствие CR (сутки 42)
1	CD3xNull	—		
2	HC3B125	0,05 мг/кг	112% ***p<0.0001	
3	HC3B125	0,1 мг/кг	118% ***p<0.0001	1/9 ПО
4	HC3B125	0,3 мг/кг	130% ***p<0.0001	1/10 ПО
5	HC3B125	1 мг/кг	129% ***p<0.0001	
6	HC3B125	5 мг/кг	118% ***p<0.0001	3/10 ПО

**Пример 14. Эффективность HC3B258 в установленных моделях опухолей на основе полученного от пациента ксенотрансплантата у гуманизированных T-клетками мышей NSG**

10

Для изучения корреляции между экспрессией HLA-G и противоопухолевой эффективностью *in vivo* антитело HC3B258 оценивали на панели из десяти моделей солидных опухолей на основе полученного от пациента человеческого ксенотрансплантата (PDX) (Charles River Discovery Research Services Germany GmbH) у самок мышей NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ (NSG), гуманизированных внутрибрюшинно (в/б) человеческими пан-T-клетками (таблица 53). Модели PDX, выбранные для включения в панель, представляли модели опухолей различных показателей солидных опухолей и демонстрировали различные уровни (включая отсутствие экспрессии) целевой экспрессии HLA-G, как определено с помощью оценки вестерн-блоттинга (WB).

15

20

Модели PDX были получены из хирургических образцов пациентов. Опухоли, собранные из ксенотрансплантатов в серийном пассаже, вырезали и делили на фрагменты длиной 3–4 мм, затем имплантировали подкожно (SC) в бок мышей NSG. Мышей с опухолью рандомизировали, когда опухоли достигали 100–200 мм<sup>3</sup>, на 3 группы из 5 животных на основе объема опухоли, так что все группы имели аналогичные средние значения. В день рандомизации животных гуманизировали *in vitro* активированными и размноженными человеческими пан-T-клетками (ALLCELLS, донор 6093) в концентрации 1×10<sup>8</sup> клеток/мл, для внутрибрюшинной инъекции 2×10<sup>7</sup> клеток в 0,2 мл на мыш. В день после гуманизации T-клетками мышам вводили

25

внутривенно (в/в) дважды в неделю HC3B258 в дозе 0,03 или 0,3 мг/кг или носитель, в общей сложности 6 доз (сутки 1, 5, 8, 12, 15 и 19 после гуманизации Т-клетками).

Гуманизированные Т-клетками мыши получали Fc-блокатор (Clone 2.4G2; BioXCell,) в концентрации 0,2 мг/мышь внутривенно и внутривенный иммуноглобулин (IVIg) (Gammagard, NDC#00944-2700-05) в дозе 10 мг/мышь внутривенно по меньшей мере за 30 минут до введения HC3B258 для коррекции среды низкого Ig у мыши NSG.

Объем опухоли рассчитывали по формуле:

$$\text{объем опухоли (мм}^3\text{)} = (D \times d^2 / 2)$$

где «D» обозначает наибольший диаметр, а «d» наименьший диаметр,

определяемые по измерениям штангенциркулем. В конце терапии сравнивали противоопухолевую эффективность, включая биологическую и статистическую значимость, между группами, получавшими терапию HC3B258, и контрольной группой, получавшей носитель, когда в каждой группе оставалось по меньшей мере 4 мыши (в диапазоне 34–42 суток). Противоопухолевая эффективность выражалась в процентах ингибирования роста опухоли (% ΔTGI) и определялась как разница между средней опухолевой нагрузкой в группах лечения и контроля, рассчитываемая как

$$\% \Delta TGI = [(TV_c - TV_{c0}) - (TV_t - TV_{t0})] / (TV_c - TV_{c0}) \times 100$$

где «TV<sub>c</sub>» представляет собой среднюю опухолевую нагрузку в данной контрольной группе, «TV<sub>c0</sub>» представляет собой среднюю начальную опухолевую нагрузку в данной контрольной группе, «TV<sub>t</sub>» представляет собой среднюю опухолевую нагрузку в получавшей лечение группе, а «TV<sub>t0</sub>» представляет собой среднюю начальную опухолевую нагрузку в получавшей лечение группе. Полный ответ (ПО) был определен как отсутствие пальпируемой опухоли в последний день анализа. Статистическую значимость измерений объема опухоли рассчитывали с использованием анализа ΔTGI (InVivoLDA Shiny App, версия 4.0, Johnson&Johnson). Различия между группами считали значимыми при  $p \leq 0,05$ .

Анализ вестерн-блоттинга (WB) проводили в отношении общих белковых лизатов PDX с использованием антитела 4H84 к HLA-G (Abcam). Общие белковые лизаты PDX (каждый в концентрации 5 мг/мл) получали от Charles River, Германия. Каждый образец (10 мкл) загружали на гель NuPAGE® 4–12% Bis-Tris Mini. В качестве белковых маркеров использовались белковый стандарт MagicMark™ XP Western Protein Standard и маркер молекулярного веса Full Range Rainbow Molecular Weight Marker. Использовали буфер NuPAGE® MOPS SDS Running Buffer. Гель выдерживали в течение 15 минут при 70 В, затем 50 минут при 200 В. После электрофореза гель

переносили на поливинилиденфторидную (PVDF) мембрану с использованием модуля XCell II Blot Module (ThermoFisher Scientific) в соответствии с протоколом производителя. Через 2 часа блоттинга при 30 В мембрану переносили в блокирующий буферный раствор Odyssey на 1 час при комнатной температуре. Мембрану инкубировали в течение ночи при 4 °С с первичным антителом 4H84 (1:200) и анти-винкулином, разведением (1:5000) в блокирующем буферном растворе Odyssey. После 3–4 стадий промывки Трис-буферным солевым раствором / 0,1% Tween 20 (TBST) мембрану инкубировали с соответствующим вторичным антителом (разбавленным 1:1000 в блокирующем буфере Odyssey, содержащем 0,1% Tween 20) в течение 1 часа при комнатной температуре. После 3–5 стадий промывки с использованием TBST мембрану сканировали на системе ИК-визуализации Odyssey IR (LI-COR Biosciences) при 700 нм. Данные анализировали следующим образом. Два ИК флуоресцентные каналы обнаружения системы Odyssey обеспечивают одновременный 2-цветный целевой анализ для HLA-G и винкулина, используемого в качестве контроля нагрузки. Определяли интенсивность флуоресценции (ИФ) каждого образца в обоих каналах (Image Studio) и нормализовали путем деления значения ИФ HLA-G на ИФ винкулина.

Устойчивая противоопухолевая эффективность и полные ответы (ПО) наблюдались после лечения HC3B258 в дозе 0,03 и 0,3 мг/кг в нескольких моделях PDX с уровнями экспрессии белка HLA-G WB>1 (PRXF MRI-H1579, LXFA 2204 и RXF 488) и WB 0,1–1,0 (RXF 2706 и PAXF 2175). Терапия HC3B258 в других моделях PDX (RXF 616, BXF 439 и MEXF 1792), экспрессирующих сопоставимые уровни HLA-G, приводила к дозозависимой противоопухолевой эффективности с промежуточным ответом на лечение при дозе 0,03 мг/кг, демонстрируя возможный присущий механизм резистентности в этих моделях (**таблица 53**). Терапия HC3B258 при любом уровне дозы не привела к биологически значимой противоопухолевой эффективности в моделях PDX с отрицательной экспрессией белка HLA-G. В совокупности эти результаты указывают на сильную специфическую противоопухолевую эффективность при различных уровнях экспрессии HLA-G, в то время как при отсутствии экспрессии HLA-G этот эффект не наблюдается.

**Таблица 53. Эффективность терапии HC3B258 в установленной модели опухоли на основе полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX) у гуманизированных Т-клетками мышей NSG**

Модель PDX	Тип	%ΔTGI	%ΔTGI	ПО	ПО 0,3 мг/кг	WB
------------	-----	-------	-------	----	--------------	----

	<b>опухоли</b>	<b>0,03 мг/кг</b>	<b>0,3 мг/кг</b>	<b>0,03 мг/кг</b>		
PRXF MRI-H1579	Предстательная железа	110%	112%	5/5	5/5	2,5
LXFA 2204	Легкое	118%	118%	5/5	5/5	4,8
RXF 488	Почка	166%	164%	5/5	5/5	1,33
RXF 2706	Почка	123%	123%	4/4	3/3	0,62
PAXF 2175	Поджелудочная железа	132%	132%	5/5	5/5	0,26
RXF 616	Почка	60%	101%	0/5	1/5	0,36
BXF 439	Мочевой пузырь	58%	113%	0/5	0/5	0,53
MEXF 1792	Меланома	39%	99%	0/5	0/5	1,1
GXF 281	Желудок	-14%	-2%	0/5	0/5	0,02
PAXF 546	Поджелудочная железа	8%	-12%	0/5	0/5	0,07

$p \leq 0,05$  по сравнению с контролем, за исключением случаев, отмеченных как несущественные (нс); ПО = полный ответ.

## Справочная литература

- 1 Lee, N. *et al.* The membrane-bound and soluble forms of HLA-G bind identical sets of  
endogenous peptides but differ with respect to TAP association. *Immunity* **3**, 591-600,  
5 doi:10.1016/1074-7613(95)90130-2 (1995).
- 2 Juch, H. *et al.* A novel sandwich ELISA for alpha1 domain based detection of soluble  
HLA-G heavy chains. *J Immunol Methods* **307**, 96-106, doi:10.1016/j.jim.2005.09.016  
(2005).
- 3 Morales, P. J., Pace, J. L., Platt, J. S., Langat, D. K. & Hunt, J. S. Synthesis of beta(2)-  
10 microglobulin-free, disulphide-linked HLA-G5 homodimers in human placental  
villous cytotrophoblast cells. *Immunology* **122**, 179-188, doi:10.1111/j.1365-  
2567.2007.02623.x (2007).
- 4 Carosella, E. D., Favier, B., Rouas-Freiss, N., Moreau, P. & Lemaoult, J. Beyond the  
increasing complexity of the immunomodulatory HLA-G molecule. *Blood* **111**, 4862-  
15 4870, doi:10.1182/blood-2007-12-127662 (2008).
- 5 Carosella, E. D., Rouas-Freiss, N., Tronik-Le Roux, D., Moreau, P. & LeMaoult, J.  
HLA-G: An Immune Checkpoint Molecule. *Adv Immunol* **127**, 33-144,  
doi:10.1016/bs.ai.2015.04.001 (2015).
- 6 Clements, C. S. *et al.* Crystal structure of HLA-G: a nonclassical MHC class I  
20 molecule expressed at the fetal-maternal interface. *Proc Natl Acad Sci USA* **102**,  
3360-3365, doi:10.1073/pnas.0409676102 (2005).
- 7 Shields, R. L. *et al.* Lack of fucose on human IgG1 N-linked oligosaccharide improves  
binding to human Fcgamma RIII and antibody-dependent cellular toxicity. *J Biol*  
*Chem* **277**, 26733-26740, doi:10.1074/jbc.M202069200 (2002).
- 25 8 Zhang, D. *et al.* Functional optimization of agonistic antibodies to OX40 receptor with  
novel Fc mutations to promote antibody multimerization. *MAbs* **9**, 1129-1142,  
doi:10.1080/19420862.2017.1358838 (2017).
- 9 Wilky, B. A. Immune checkpoint inhibitors: The linchpins of modern immunotherapy.  
*Immunol Rev* **290**, 6-23, doi:10.1111/imr.12766 (2019).

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенный белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с человеческим лейкоцитарным антигеном G (HLA-G., причем
- 5 антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит:
- a) определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HCDR) 1, HCDR2 и HCDR3 варибельной области тяжелой цепи (VH) с последовательностью SEQ ID NO: 50 и определяющую комплементарность область легкой цепи (LCDR) 1, LCDR2 и LCDR3 варибельной области легкой цепи (VL) с
- 10 последовательностью SEQ ID NO: 51; или
- b) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 52 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 53; или
- c) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 54 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 55; или
- 15 d) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 56 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 57; или
- e) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 58 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 59; или
- f) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 60 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 61; или
- 20 g) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 62 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 63; или
- h) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 64 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 65; или
- 25 i) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 66 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 67; или
- j) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 VH с SEQ ID NO: 68 и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 VL с SEQ ID NO: 69.
- 30 2. Выделенный белок по п. 1, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, LCDR3 с
- a) SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно;
- b) SEQ ID NO: 73, 71, 74, 91, 89 и 92 соответственно;
- c) SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно;

- d) SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно;
- e) SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно;
- f) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно;
- g) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно;
- 5 h) SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно; или
- i) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.
3. Выделенный белок по п. 1 или 2, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой scFv, (scFv)<sub>2</sub>, Fv, Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fd, dAb
- 10 или VHH.
4. Выделенный белок по п. 3, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой Fab.
- 15 5. Выделенный белок по п. 3, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, представляет собой scFv.
6. Выделенный белок по п. 5, в котором scFv содержит, от N- до C-конца, VH, первый линкер (L1) и VL (VH-L1-VL) или VL, L1 и VH (VL-L1-VH).
- 20 7. Выделенный белок по п. 6, в котором L1 содержит:
- a) около 5–50 аминокислот;
- b) около 5–40 аминокислот;
- c) около 10–30 аминокислот; или
- 25 d) около 10–20 аминокислот.
8. Выделенный белок по п. 6, в котором L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.
- 30 9. Выделенный белок по п. 8, в котором L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8.

10. Выделенный белок по любому из пп. 1–9, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68 и VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.
- 5 11. Выделенный белок по п. 10, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит:
- a) VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;
  - b) VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;
  - c) VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;
  - 10 d) VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;
  - e) VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;
  - f) VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;
  - g) VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;
  - h) VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;
  - 15 i) VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67; или
  - j) VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.
12. Выделенный белок по любому из пп. 1–11, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с
- 20 SEQ ID NO: 265, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 266, 267, 268 или 269.
13. Выделенный белок по любому из пп. 1–12, в котором белок конъюгирован с фрагментом, продлевающим период полужизни.
- 25
14. Выделенный белок по п. 13, в котором фрагмент, продлевающий период полужизни, представляет собой иммуноглобулин (Ig), фрагмент Ig, константную область Ig, фрагмент константной области Ig, Fc-область, трансферрин, альбумин, альбумин-связывающий домен или полиэтиленгликоль.
- 30
15. Выделенный белок по любому из пп. 1–14, в котором выделенный белок представляет собой моноспецифический белок.

16. Выделенный белок по любому из пп. 1–14, в котором выделенный белок представляет собой мультиспецифический белок.
- 5 17. Выделенный белок по п. 16, в котором мультиспецифический белок представляет собой биспецифический белок.
18. Выделенный белок по п. 16, в котором мультиспецифический белок представляет собой триспецифический белок.
- 10 19. Выделенный белок по любому из пп. 1–18, дополнительно содержащий константную область иммуноглобулина (Ig) или фрагмент его константной области Ig.
- 15 20. Выделенный белок по п. 19, в котором фрагмент константной области Ig содержит Fc-область.
21. Выделенный белок по п. 19, в котором фрагмент константной области Ig содержит домен CH2.
- 20 22. Выделенный белок по п. 19, в котором фрагмент константной области Ig содержит домен CH3.
23. Выделенный белок по п. 19, в котором фрагмент константной области Ig содержит домен CH2 и домен CH3.
- 25 24. Выделенный белок по п. 19, в котором фрагмент константной области Ig содержит по меньшей мере часть шарнирной области, домен CH2 и домен CH3.
25. Выделенный белок по п. 19, в котором фрагмент константной области Ig содержит шарнирную область, домен CH2 и домен CH3.
- 30 26. Выделенный белок по любому из пп. 19–25, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с N-концом константной области Ig или фрагмента константной области Ig.

27. Выделенный белок по любому из пп. 19–25, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с С-концом константной области Ig или фрагмента константной области Ig.
- 5
28. Выделенный белок по любому из пп. 19–27, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с константной областью Ig или фрагментом константной области Ig посредством второго линкера (L2).
- 10
29. Выделенный белок по п. 41, в котором L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.
- 15
30. Выделенный белок по любому из пп. 16–29, в котором мультиспецифический белок содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном на лимфоците.
31. Выделенный белок по п. 30, в котором лимфоцит представляет собой Т-клетку.
- 20
32. Выделенный белок по п. 30, в котором Т-клетка представляет собой CD8<sup>+</sup> Т-клетку.
33. Выделенный белок по п. 30, в котором лимфоцит представляет собой клетку натурального киллера (NK).
- 25
34. Выделенный белок по любому из пп. 16–33, в котором мультиспецифический белок содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с CD3, CD3 эпсилон (CD3ε), CD8, KI2L4, NKG2E, NKG2D, NKG2F, BTNL3, CD186, BTNL8, PD-1, CD195 или NKG2C.
- 30
35. Выделенный белок по п. 34, в котором мультиспецифический белок содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с CD3ε.
36. Выделенный белок по п. 34, в котором антигенсвязывающий домен, который связывается с CD3ε, содержит:

- a) HCDR1 с SEQ ID NO: 364, HCDR2 с SEQ ID NO: 365, HCDR3 с SEQ ID NO: 366, LCDR1 с SEQ ID NO: 371, LCDR2 с SEQ ID NO: 372 и LCDR3 с SEQ ID NO: 373;
- b) VH с SEQ ID NO: 346 и VL с SEQ ID NO: 347;
- 5 c) VH с SEQ ID NO: 348 и VL с SEQ ID NO: 349;
- d) определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (HCDR1) с SEQ ID NO: 361, HCDR2 с SEQ ID NO: 362, HCDR3 с SEQ ID NO: 363, определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (LCDR1) с SEQ ID NO: 367, LCDR2 с SEQ ID NO: 368 и LCDR3 с SEQ ID NO: 369;
- 10 e) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 340;
- f) HCDR1 с SEQ ID NO: 361, HCDR2 с SEQ ID NO: 362, HCDR3 с SEQ ID NO: 363, LCDR1 с SEQ ID NO: 367, LCDR2 с SEQ ID NO: 368 и LCDR3 с SEQ ID NO: 370;
- g) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 341;
- 15 h) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 342;
- i) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 343;
- j) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 344; или
- k) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 345.
- 20 37. Выделенный белок по любому из пп. 19–36, в котором константная область Ig или фрагмент константной области Ig представляет собой изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.
38. Выделенный белок по любому из пп. 19–37, в котором константная область Ig или  
25 фрагмент константной области Ig содержит по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к ослаблению связывания белка с Fcγ-рецептором (FcγR).
39. Выделенный белок по п. 38, в котором по меньшей мере одну мутацию, которая  
30 приводит к ослаблению связывания белка с FcγR, выбирают из группы, состоящей из L234A/L235A/D265S, F234A/L235A, L234A/L235A, V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S, F234A/L235A, S228P/F234A/L235A, N297A, V234A/G237A, K214T/E233P/L234V/L235A/G236-  
делеция/A327G/P331A/D365E/L358M, H268Q/V309L/A330S/P331S, S267E/L328F, L234F/L235E/D265A, L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S,

S228P/F234A/L235A/G237A/P238S и S228P/F234A/L235A/G236-  
делеция/G237A/P238S, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

40. Выделенный белок по любому из пп. 19–37, в котором константная область Ig или  
5 фрагмент константной области Ig содержит по меньшей мере одну мутацию,  
которая приводит к усилению связывания белка с FcγR.
41. Выделенный белок по п. 40, в котором по меньшей мере одну мутацию, которая  
приводит к усилению связывания белка с FcγR, выбирают из группы, состоящей из  
10 S239D/I332E, S298A/E333A/K334A, F243L/R292P/Y300L,  
F243L/R292P/Y300L/P396L, F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L и  
G236A/S239D/I332E, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.
42. Выделенный белок по любому из пп. 38–41, в котором FcγR представляет собой  
15 FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB или FcγRIII или любую их комбинацию.
43. Выделенный белок по любому из пп. 19–42, в котором константная область Ig  
фрагмента константной области Ig содержит по меньшей мере одну мутацию,  
которая модулирует период полужизни белка.  
20
44. Выделенный белок по п. 43, в котором по меньшей мере одну мутацию, которая  
модулирует период полужизни белка, выбирают из группы, состоящей из H435A,  
P257I/N434H, D376V/N434H, M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F, T308P/N434A и  
H435R, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.  
25
45. Выделенный белок по любому из пп. 19–44, в котором указанный белок содержит  
по меньшей мере одну мутацию в домене CH3 константной области Ig.
46. Выделенный белок по п. 45, в котором по меньшей мере одну мутацию в домене  
30 CH3 константной области Ig выбирают из группы, состоящей из T350V, L351Y,  
F405A, Y407V, T366Y, T366W, F405W, T394W, T394S, Y407T, Y407A,  
T366S/L368A/Y407V, L351Y/F405A/Y407V, T366I/K392M/T394W, F405A/Y407V,  
T366L/K392M/T394W, L351Y/Y407A, T366A/K409F, L351Y/Y407A, T366V/K409F,

T366A/K409F, T350V/L351Y/F405A/Y407V и T350V/T366L/K392L/T394W, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

47. Выделенный мультиспецифический белок, содержащий первый  
5 антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и второй  
антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном.
48. Выделенный мультиспецифический белок по п. 47, в котором лимфоцитарный  
антиген представляет собой Т-клеточный антиген.
- 10 49. Выделенный мультиспецифический белок по п. 47, в котором Т-клеточный антиген  
представляет собой CD8<sup>+</sup> Т-клеточный антиген.
50. Выделенный мультиспецифический белок по п. 47, в котором лимфоцитарный  
15 антиген представляет собой NK-клеточный антиген.
51. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 47–50, в котором  
лимфоцитарный антиген представляет собой CD3, CD3 эпсилон (CD3ε), CD8,  
KI2L4, NKG2E, NKG2D, NKG2F, BTNL3, CD186, BTNL8, PD-1, CD195 или  
20 NKG2C.
52. Выделенный мультиспецифический белок по п. 51, в котором лимфоцитарный  
антиген представляет собой CD3ε.
- 25 53. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 47–52, в котором  
первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй  
антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном,  
содержит scFv, (scFv)<sub>2</sub>, Fv, Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fd, dAb или VHH.
- 30 54. Выделенный мультиспецифический белок по п. 53, в котором первый  
антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй  
антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном,  
содержат Fab.

55. Выделенный мультиспецифический белок по п. 53, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержат scFv.
- 5
56. Выделенный мультиспецифический белок по п. 55, в котором scFv содержит, от N-до С-конца, VH, первый линкер (L1) и VL (VH-L1-VL) или VL, L1 и VH (VL-L1-VH).
- 10
57. Выделенный мультиспецифический белок по п. 56, в котором L1 содержит:
- a) около 5–50 аминокислот;
  - b) около 5–40 аминокислот;
  - c) около 10–30 аминокислот; или
  - d) около 10–20 аминокислот.
- 15
58. Выделенный мультиспецифический белок по п. 57, в котором L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.
- 20
59. Выделенный мультиспецифический белок по п. 58, в котором L1 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8.
- 25
60. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 47–59, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 70, 73, 75, 78, 81 или 85, HCDR2 с SEQ ID NO: 71, 76, 79, 82 или 86, HCDR3 с SEQ ID NO: 72, 74, 77, 80, 83, 84 или 87, LCDR1 с SEQ ID NO: 88, 91, 93, 95, 97, 99, 101 или 102, LCDR2 с SEQ ID NO: 89 или 103 и LCDR3 с SEQ ID NO: 90, 92, 94, 96, 98, 100 или 104.
- 30
61. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 47–60, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с
- a) SEQ ID NO: 70, 71, 72, 88, 89 и 90 соответственно;

- b) SEQ ID NO: 73, 71, 74, 91, 89 и 92 соответственно;
  - c) SEQ ID NO: 75, 76, 77, 93, 89 и 94 соответственно;
  - d) SEQ ID NO: 78, 79, 80, 95, 89 и 96 соответственно;
  - e) SEQ ID NO: 81, 82, 83, 97, 89 и 98 соответственно;
  - 5 f) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 99, 89 и 100 соответственно;
  - g) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 101, 89 и 100 соответственно;
  - h) SEQ ID NO: 85, 86, 87, 102, 103 и 104 соответственно; или
  - i) SEQ ID NO: 78, 71, 84, 95, 89 и 96 соответственно.
- 10 62. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 47–61, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит:
- a) VH с SEQ ID NO: 50 и VL с SEQ ID NO: 51;
  - b) VH с SEQ ID NO: 52 и VL с SEQ ID NO: 53;
  - c) VH с SEQ ID NO: 54 и VL с SEQ ID NO: 55;
  - 15 d) VH с SEQ ID NO: 56 и VL с SEQ ID NO: 57;
  - e) VH с SEQ ID NO: 58 и VL с SEQ ID NO: 59;
  - f) VH с SEQ ID NO: 60 и VL с SEQ ID NO: 61;
  - g) VH с SEQ ID NO: 62 и VL с SEQ ID NO: 63;
  - h) VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65;
  - 20 i) VH с SEQ ID NO: 66 и VL с SEQ ID NO: 67; или
  - j) VH с SEQ ID NO: 68 и VL с SEQ ID NO: 69.
- 25 63. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 47–61, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит VH с SEQ ID NO: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66 или 68 и VL с SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67 или 69.
- 30 64. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 47–63, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268 или 269.

65. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 47–56, в котором второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, содержит:
- 5 a) HCDR1 с SEQ ID NO: 364, HCDR2 с SEQ ID NO: 365, HCDR3 с SEQ ID NO: 366, LCDR1 с SEQ ID NO: 371, LCDR2 с SEQ ID NO: 372 и LCDR3 с SEQ ID NO: 373;
  - b) VH с SEQ ID NO: 346 и VL с SEQ ID NO: 347;
  - c) VH с SEQ ID NO: 348 и VL с SEQ ID NO: 349
  - 10 d) HCDR1 с SEQ ID NO: 361, HCDR2 с SEQ ID NO: 362, HCDR3 с SEQ ID NO: 363, LCDR1 с SEQ ID NO: 367, LCDR2 с SEQ ID NO: 368 и LCDR3 с SEQ ID NO: 369;
  - e) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 340;
  - f) HCDR1 с SEQ ID NO: 361, HCDR2 с SEQ ID NO: 362, HCDR3 с SEQ ID NO: 363, LCDR1 с SEQ ID NO: 367, LCDR2 с SEQ ID NO: 368 и LCDR3 с SEQ ID NO: 370;
  - 15 g) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 341;
  - h) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 342;
  - i) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 343;
  - j) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 344; или
  - 20 k) VH с SEQ ID NO: 339 и VL с SEQ ID NO: 345.
66. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 47–65, в котором первый антигенсвязывающий домен, который связывается с HLA-G, конъюгирован с первой константной областью иммуноглобулина (Ig) или фрагментом первой константной области Ig и/или второй антигенсвязывающий домен, который связывается с лимфоцитарным антигеном, конъюгирован со второй константной областью иммуноглобулина (Ig) или фрагментом второй константной области Ig.
- 25
67. Выделенный мультиспецифический белок по п. 66 дополнительно содержит второй линкер (L2) между первым антигенсвязывающим доменом, который связывается с HLA-G, и первой константной областью Ig или фрагментом первой константной области Ig и между вторым антигенсвязывающим доменом, который связывается с лимфоцитарным антигеном, и второй константной областью Ig или фрагментом второй константной области Ig.
- 30

68. Выделенный мультиспецифический белок по п. 67, в котором L2 содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.
69. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 66–68, в котором первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig представляют собой изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.
70. Выделенный мультиспецифический белок по пп. 66–69, в котором первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig содержат по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к ослаблению связывания мультиспецифического белка с FcγR.
71. Выделенный мультиспецифический белок по п. 70, в котором по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к ослаблению связывания мультиспецифического белка с FcγR, выбирают из группы, состоящей из L234A/L235A/D265S, F234A/L235A, L234A/L235A, V234A/G237A/ P238S/H268A/V309L/A330S/P331S, F234A/L235A, S228P/F234A/ L235A, N297A, V234A/G237A, K214T/E233P/ L234V/L235A/G236-делеция/A327G/P331A/D365E/L358M, H268Q/V309L/A330S/P331S, S267E/L328F, L234F/L235E/D265A, L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S, S228P/F234A/L235A/G237A/P238S и S228P/F234A/L235A/G236-делеция/G237A/P238S, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.
72. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 66–69, в котором первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig содержат по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к усилению связывания мультиспецифического белка с Fcγ-рецептором (FcγR).

73. Выделенный мультиспецифический белок по п. 72, в котором по меньшей мере одну мутацию, которая приводит к усилению связывания мультиспецифического белка с FcγR, выбирают из группы, состоящей из S239D/I332E, S298A/E333A/K334A, F243L/R292P/Y300L, F243L/R292P/Y300L/P396L, F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L и G236A/S239D/I332E, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.
74. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 70–73, в котором FcγR представляет собой FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB или FcγRIII или любую их комбинацию.
75. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 66–74, в котором первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig содержат по меньшей мере одну мутацию, которая модулирует период полужизни мультиспецифического белка.
76. Выделенный мультиспецифический белок по п. 75, в котором по меньшей мере одну мутацию, которая модулирует период полужизни мультиспецифического белка, выбирают из группы, состоящей из H435A, P257I/N434H, D376V/N434H, M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F, T308P/N434A и H435R, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.
77. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 66–76, содержащий по меньшей мере одну мутацию в домене СН3 первой константной области Ig или в домене СН3 фрагмента первой константной области Ig и/или по меньшей мере одну мутацию в домене СН3 второй константной области Ig или в домене СН3 фрагмента второй константной области Ig.
78. Выделенный мультиспецифический белок по п. 77, в котором по меньшей мере одну мутацию в домене СН3 первой константной области Ig или в домене СН3 фрагмента первой константной области Ig и/или по меньшей мере одну мутацию в домене СН3 второй константной области Ig или в домене СН3 фрагмента второй константной области Ig выбирают из группы, состоящей из T350V, L351Y,

F405A, Y407V, T366Y, T366W, F405W, T394W, T394S, Y407T, Y407A, T366S/L368A/Y407V, L351Y/F405A/Y407V, T366I/K392M/T394W, F405A/Y407V, T366L/K392M/T394W, L351Y/Y407A, T366A/K409F, L351Y/Y407A, T366V/K409F, T366A/K409F, T350V/L351Y/F405A/Y407V и T350V/T366L/K392L/T394W, причем  
 5 нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

79. Выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 66–78, в котором первая константная область Ig или фрагмент первой константной области Ig и вторая константная область Ig или фрагмент второй константной области Ig  
 10 содержат следующие мутации:
- а) L235A\_L235A\_D265S\_T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V в первой константной области Ig и L235A\_L235A\_D265S\_T350V\_T366L\_K392L\_T394W во второй константной области Ig; или
- б) L235A\_L235A\_D265S\_T350V\_T366L\_K392L\_T394W в первой константной  
 15 области Ig и L235A\_L235A\_D265S\_T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V во второй константной области Ig.
80. Иммуноконъюгат, содержащий выделенный белок по любому из пп. 1–46, конъюгированный с терапевтическим агентом или агентом визуализации.  
 20
81. Фармацевтическая композиция, содержащая выделенный белок по любому из пп. 1–46 и фармацевтически приемлемый носитель.
82. Полинуклеотид, кодирующий выделенный белок по любому из пп. 1–46.  
 25
83. Вектор, содержащий полинуклеотид по п. 82.
84. Клетка-хозяин, содержащая вектор по п. 83.
- 30 85. Способ получения выделенного белка по любому из пп. 1–46, включающий культивирование клетки-хозяина по п. 84 в условиях, в которых происходит экспрессия белка, и выделение белка, продуцируемого клеткой-хозяином.

86. Иммуноконъюгат, содержащий выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 47–79, конъюгированный с терапевтическим агентом или агентом визуализации.
- 5 87. Фармацевтическая композиция, содержащая выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 47–79 и фармацевтически приемлемый носитель.
88. Полинуклеотид, кодирующий выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 47–79.
- 10 89. Вектор, содержащий полинуклеотид по п. 88.
90. Клетка-хозяин, содержащая вектор по п. 89.
- 15 91. Способ получения выделенного мультиспецифического белка по любому из пп. 47–79, включающий культивирование клетки-хозяина по п. 90 в условиях, в которых происходит экспрессия мультиспецифического белка, и выделение мультиспецифического белка, продуцируемого клеткой-хозяином.
- 20 92. Способ лечения рака, экспрессирующего HLA-G, у субъекта, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного белка по любому из пп. 1–46, выделенного мультиспецифического белка по любому из пп. 47–79, иммуноконъюгата по п. 80 или 86 или фармацевтической композиции по п. 81 или 87 субъекту в течение времени, достаточного для лечения рака, экспрессирующего HLA-G.
- 25 93. Способ уменьшения количества опухолевых клеток, экспрессирующих HLA-G, у субъекта, включающий введение выделенного белка по любому из пп. 1–46, выделенного мультиспецифического белка по любому из пп. 47–79,
- 30 иммуноконъюгата по п. 80 или 86 или фармацевтической композиции по п. 81 или 87 субъекту в течение времени, достаточного для уменьшения количества опухолевых клеток, экспрессирующих HLA-G.

94. Способ по любому из пп. 92–93, в котором рак, экспрессирующий HLA-G, представляет собой рак легкого, рак поджелудочной железы, рак почки, рак головы и шеи, рак яичника, рак пищевода, колоректальный рак, рак матки или рак молочной железы.
- 5
95. Способ по любому из пп. 92–94, в котором выделенный белок или выделенный мультиспецифический белок вводят в комбинации со вторым терапевтическим агентом.
- 10
96. Способ по п. 95, в котором второй терапевтический агент представляет собой хирургическое вмешательство, химиотерапию или лучевую терапию или любую их комбинацию.
- 15
97. Способ обнаружения наличия рака у субъекта, включающий введение иммуноконъюгата по п. 80 или 86 субъекту, предположительно имеющему рак, и визуализацию биологических структур, с которыми связывается иммуноконъюгат, таким образом обнаруживая наличие рака.
- 20
98. Набор, содержащий выделенный белок по любому из пп. 1–46, выделенный мультиспецифический белок по любому из пп. 47–79, иммуноконъюгат по п. 80 или 86 или фармацевтическую композицию по п. 81 или 87.
- 25
99. Антиидиотипическое антитело, связывающееся с выделенным белком по любому из пп. 1–46.
- 30
100. Выделенный белок, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с эпитопом на HLA-G, причем эпитоп представляет собой прерывистый эпитоп, содержащий аминокислотные последовательности HHPVFDYE (SEQ ID NO: 485) и VPS.
101. Выделенный белок, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 478.

102. Выделенный белок по п. 101, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 490.

5 103. Выделенный белок по п. 101 или 102, дополнительно содержащий аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 489 и 447.

104. Выделенный белок по п. 103, дополнительно содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 439.

10 105. Выделенный белок, содержащий аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 465 и 468.

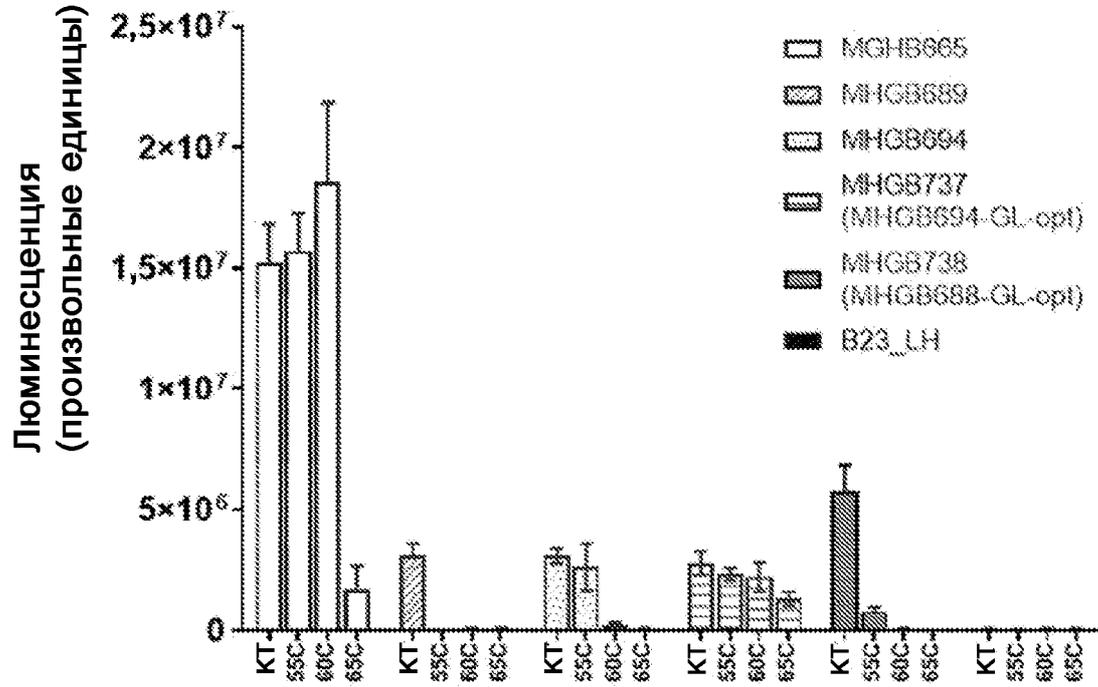
106. Выделенный белок, содержащий аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 466 и 469.

15

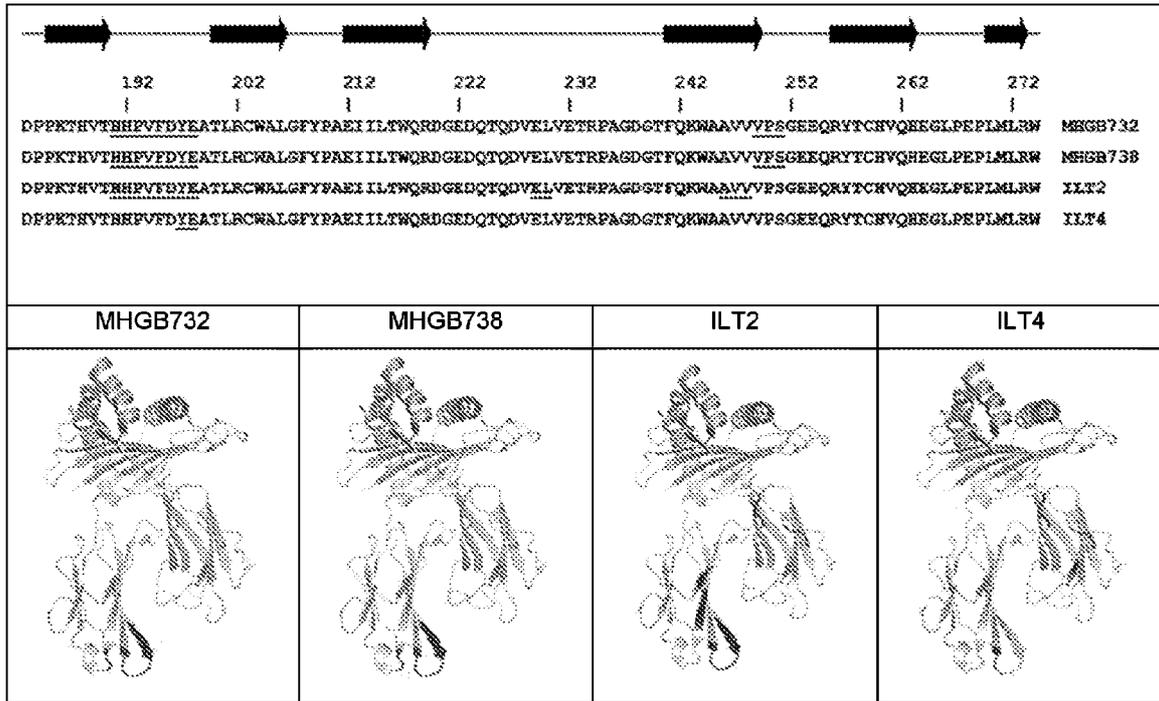
107. Выделенный белок, содержащий аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 467 и 470.

Фиг. 1

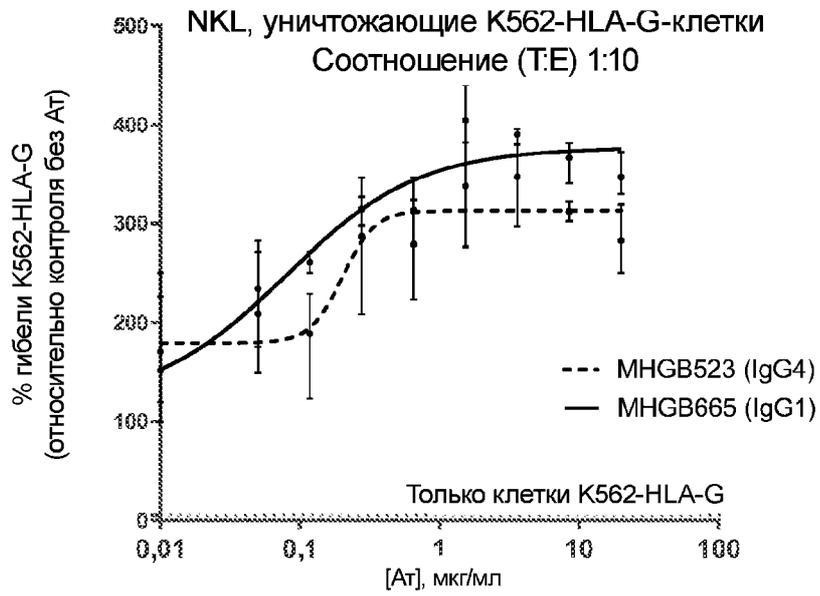
## Связывание scFv с рекомбинантным HLA-G



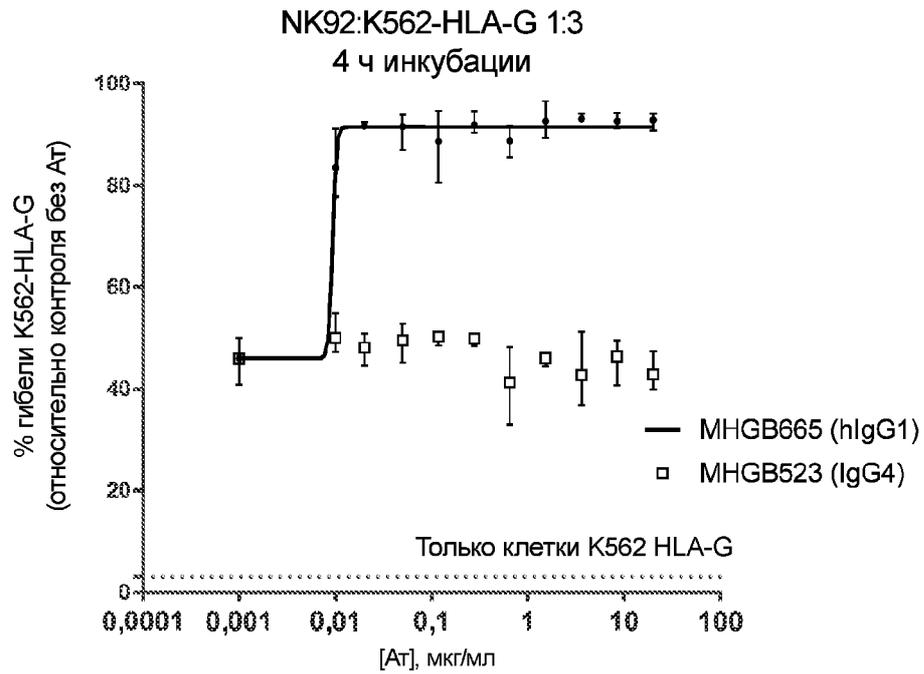
Фиг. 2



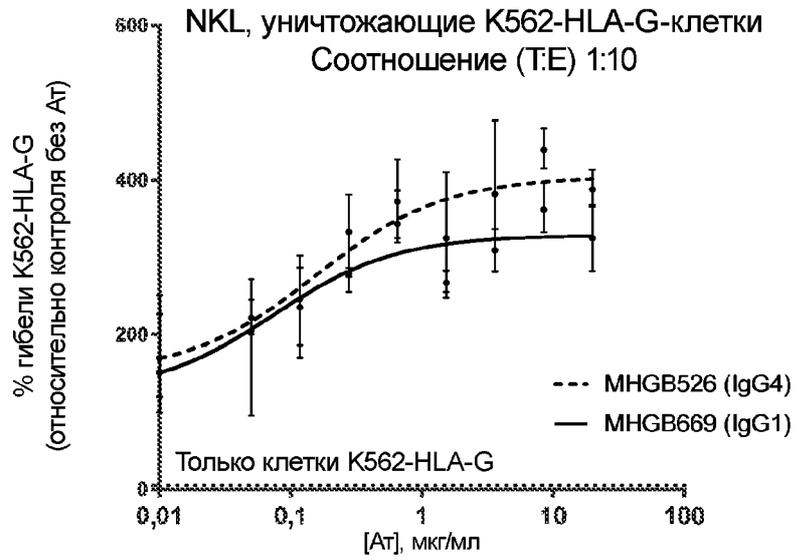
Фиг. 3А



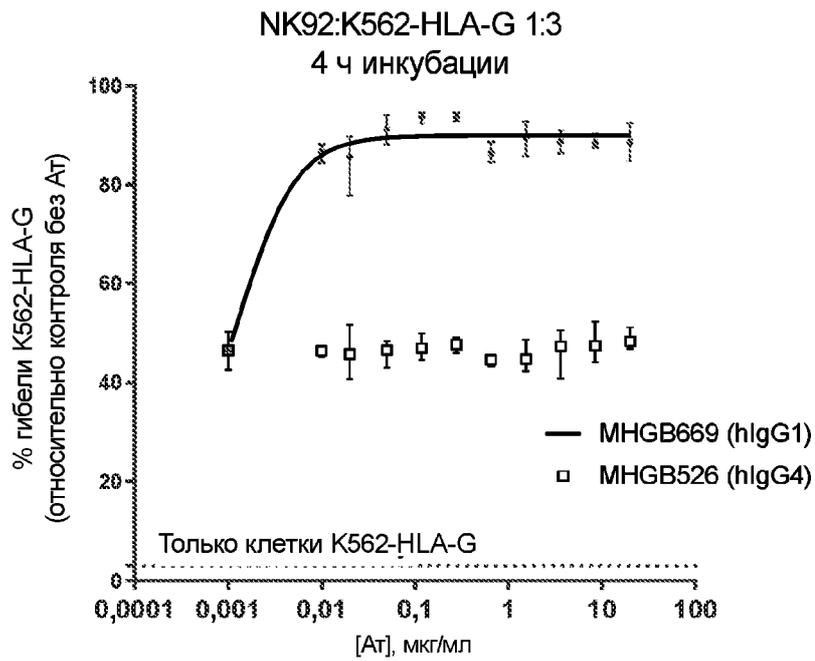
Фиг. 3Б



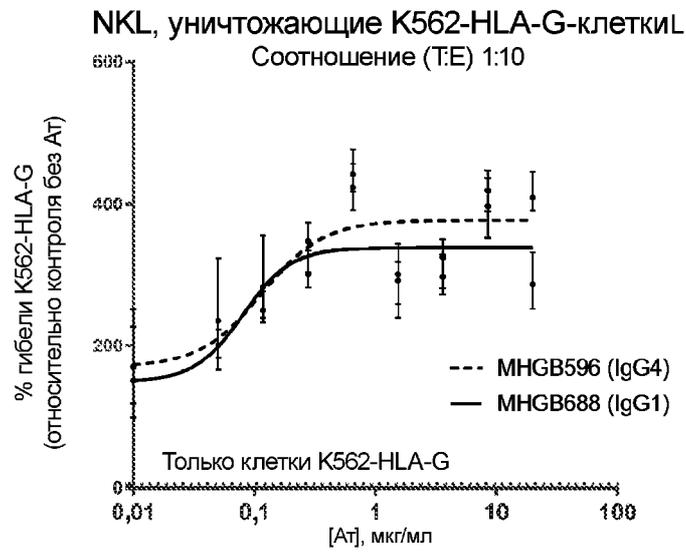
Фиг. 4А



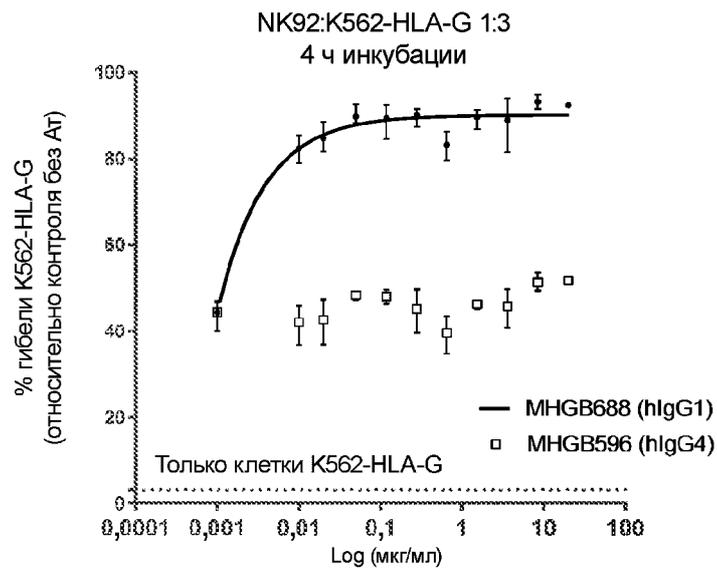
Фиг. 4Б



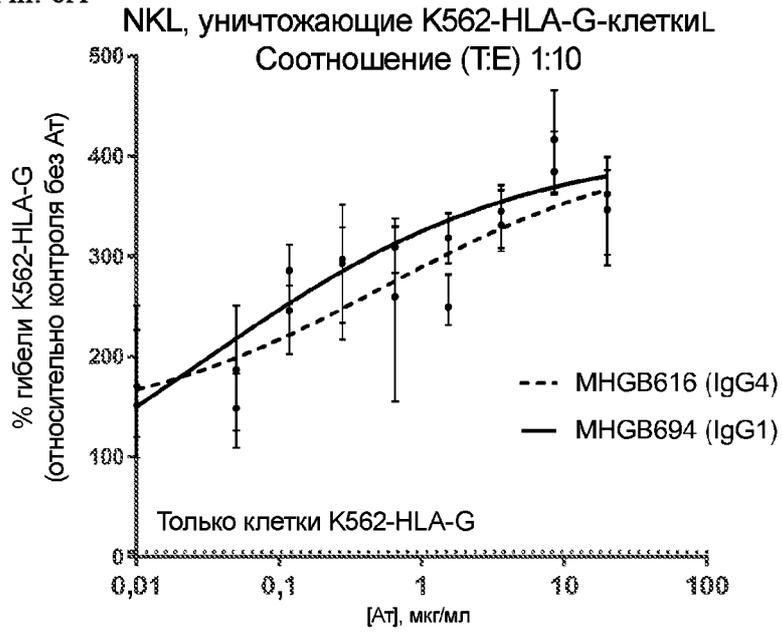
Фиг. 5А



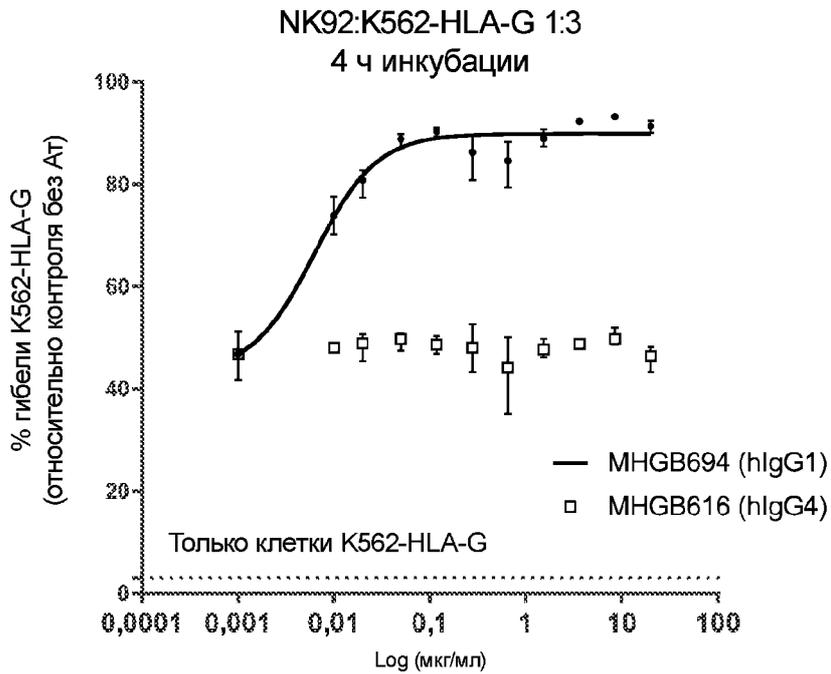
Фиг. 5Б



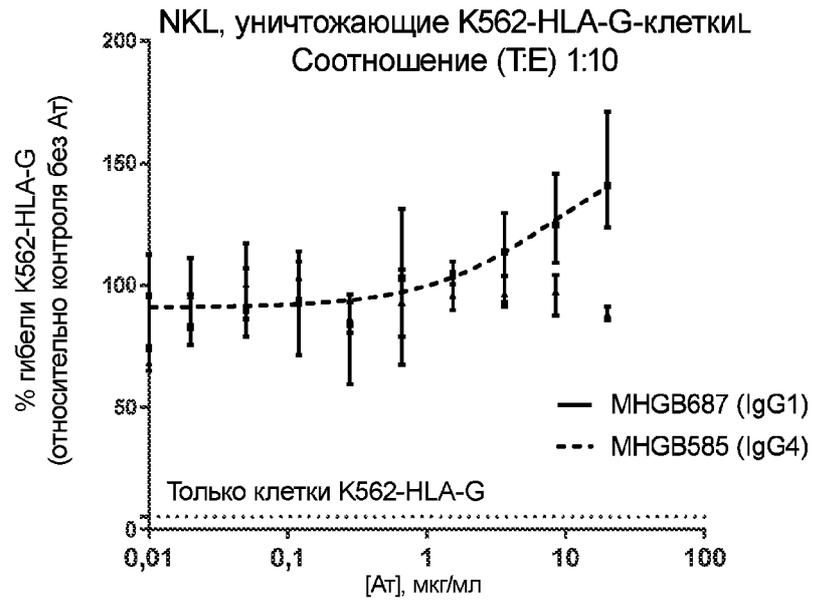
Фиг. 6А



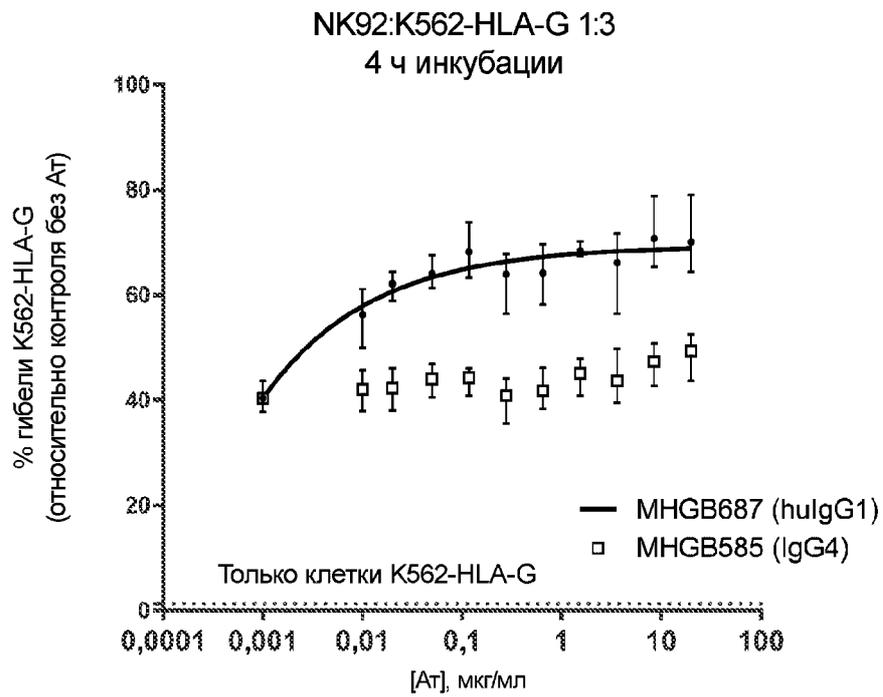
Фиг. 6Б



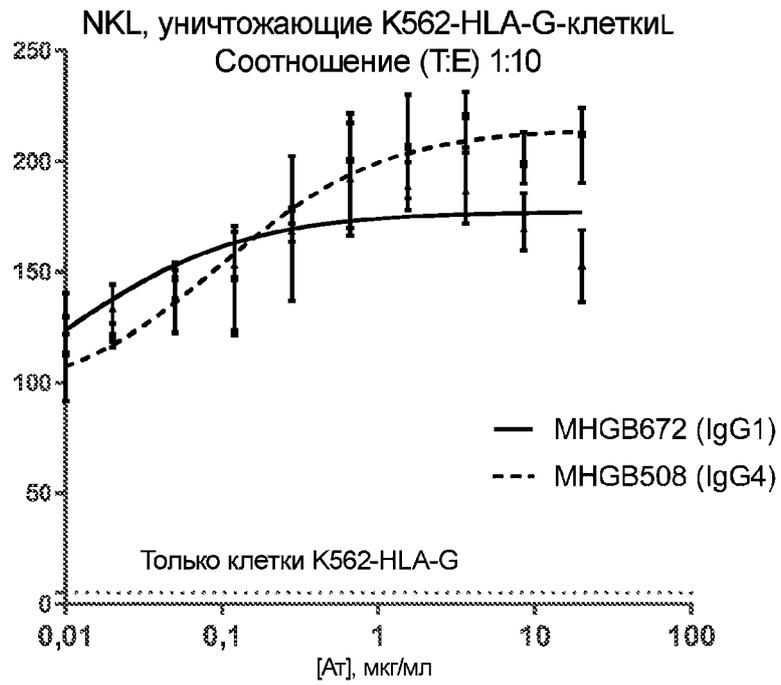
Фиг. 7А



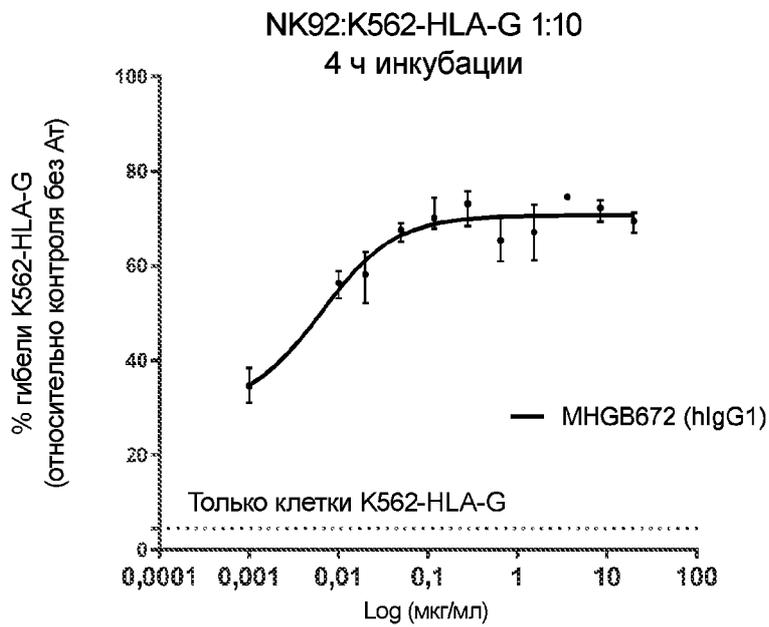
Фиг. 7Б



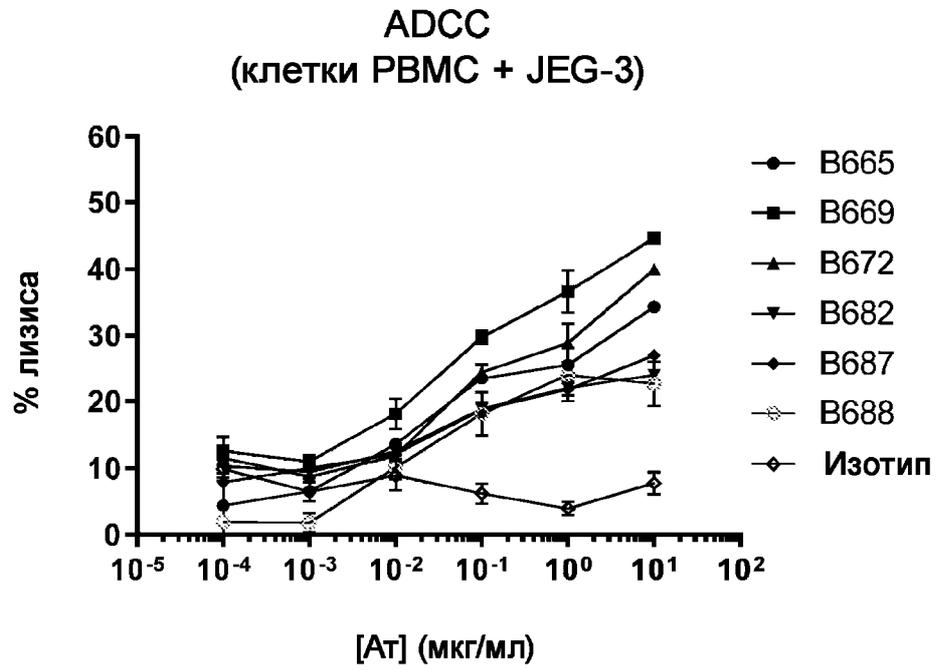
Фиг. 8А



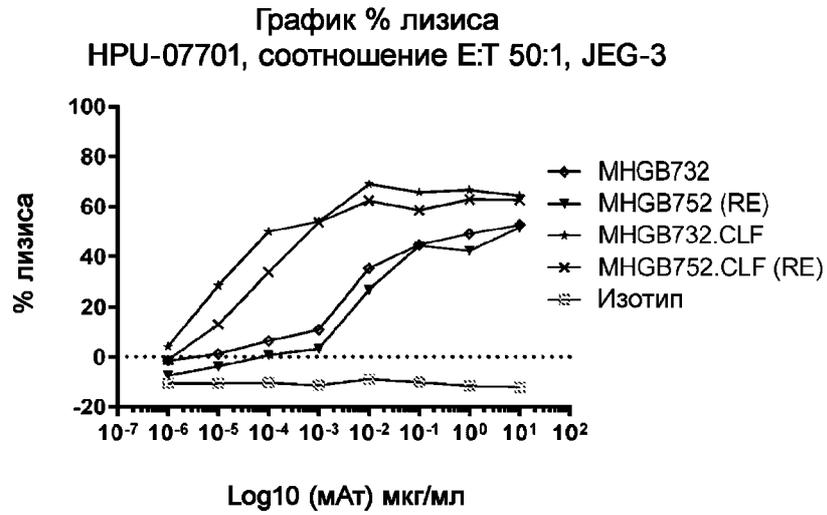
Фиг. 8Б



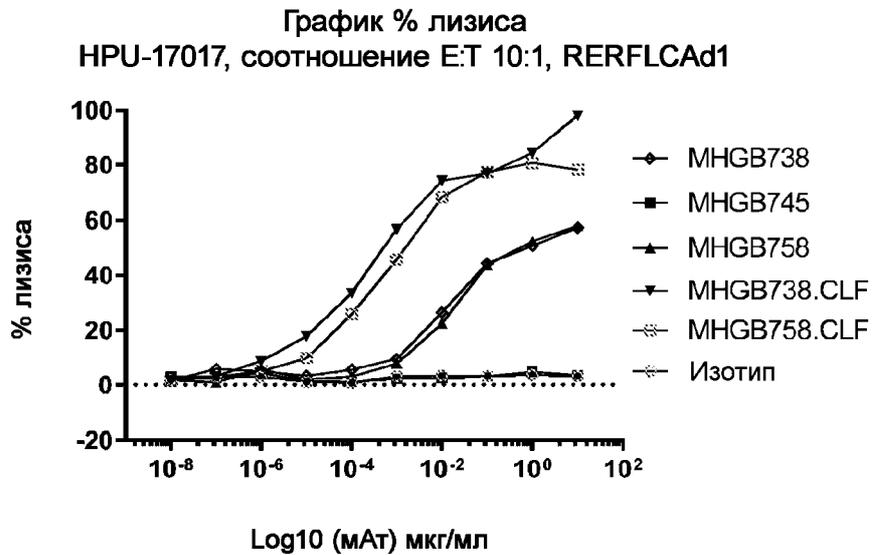
Фиг. 9



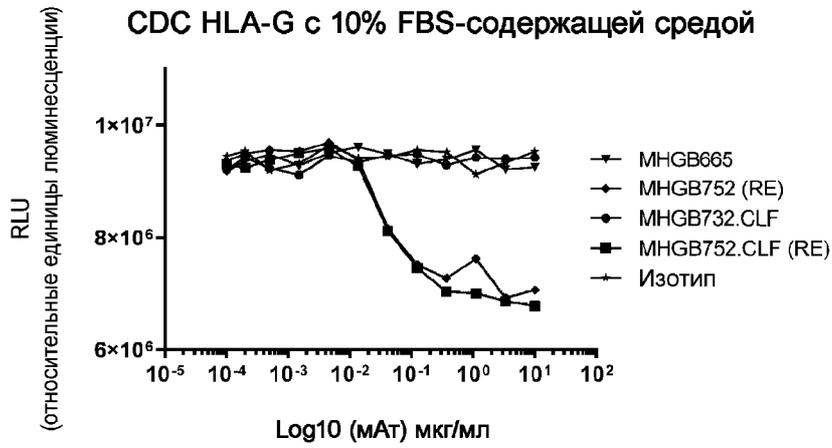
Фиг. 10А



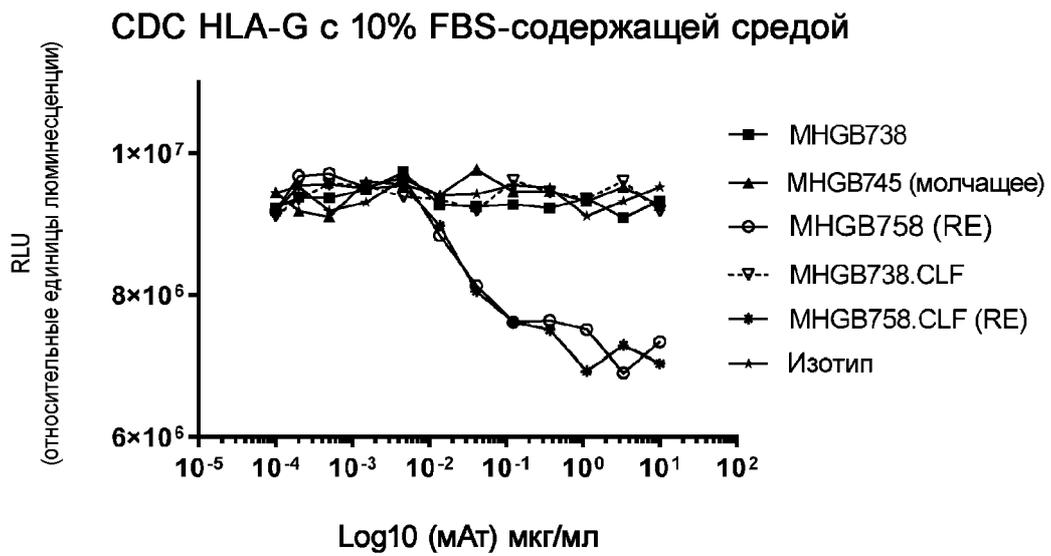
Фиг. 10Б



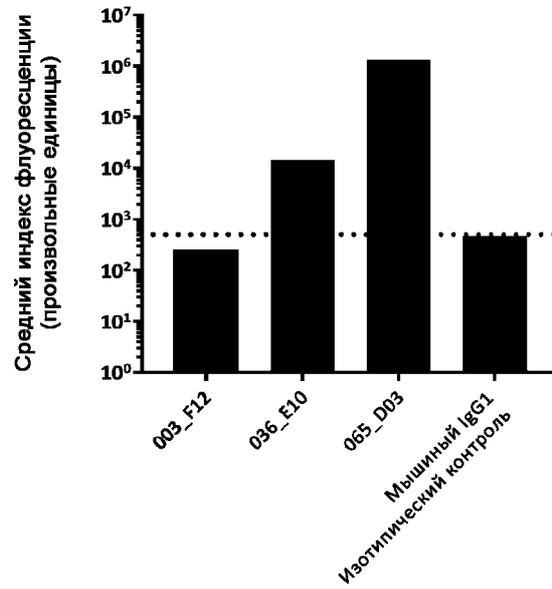
Фиг. 10В



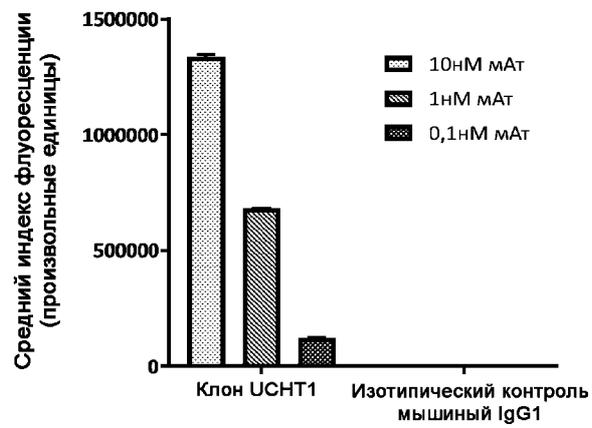
Фиг. 10Г



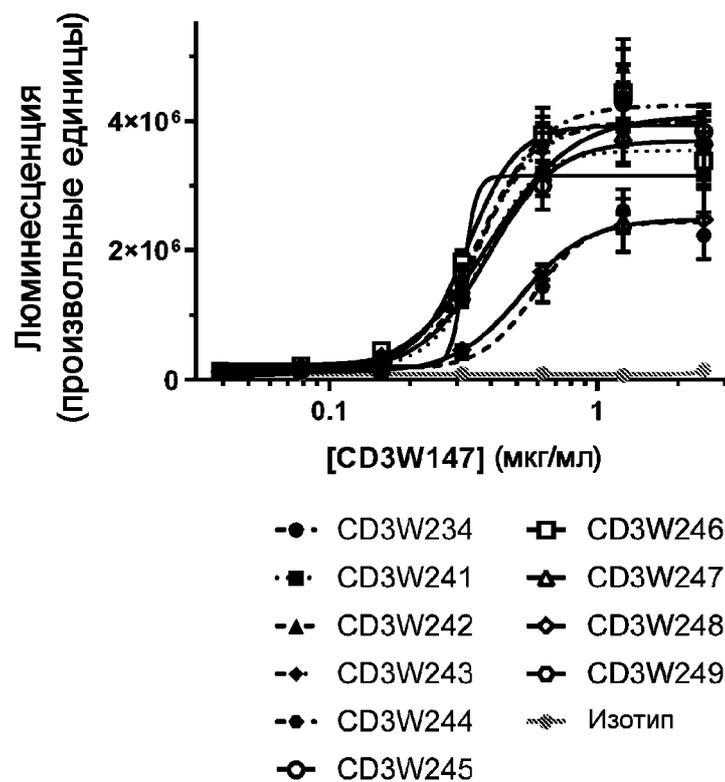
Фиг. 11А



Фиг. 11Б

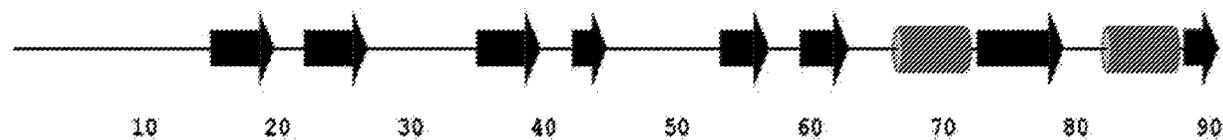


Фиг. 12





Фиг. 14

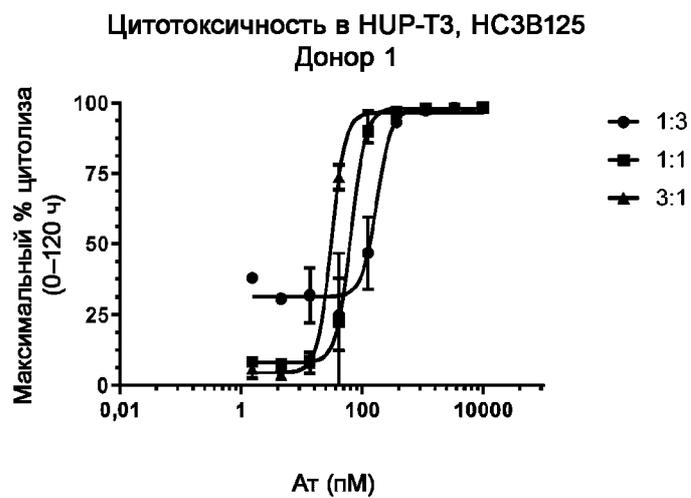


QDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEPSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYL SEQ ID NO:484 CD3e

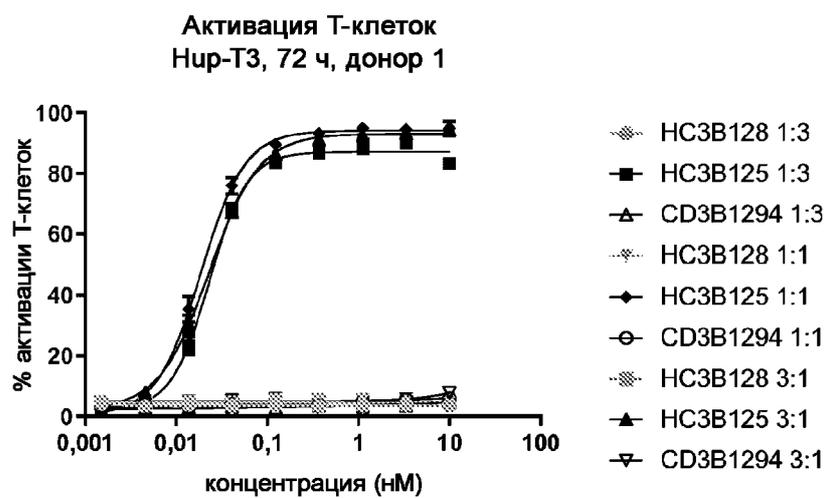
QDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEPSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYL SEQ ID NO:484 CD3e:OKT3

QDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEPSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYL SEQ ID NO:484 CD3e:CD3W245

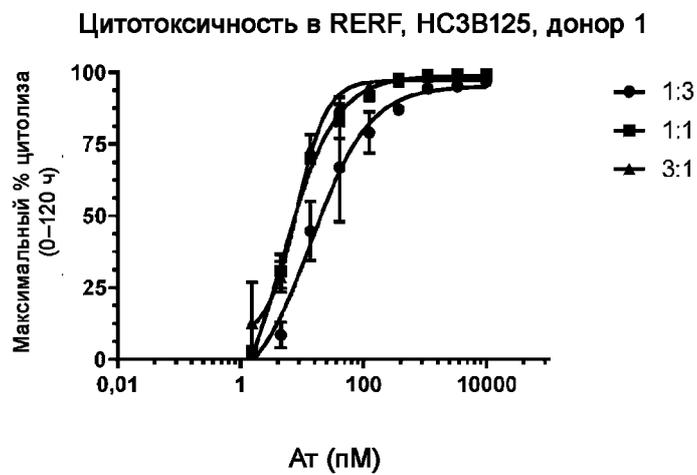
Фиг. 15А



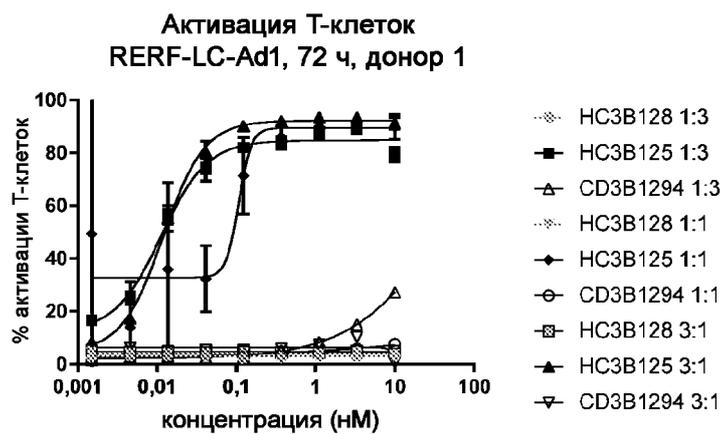
Фиг. 15Б



Фиг. 15В

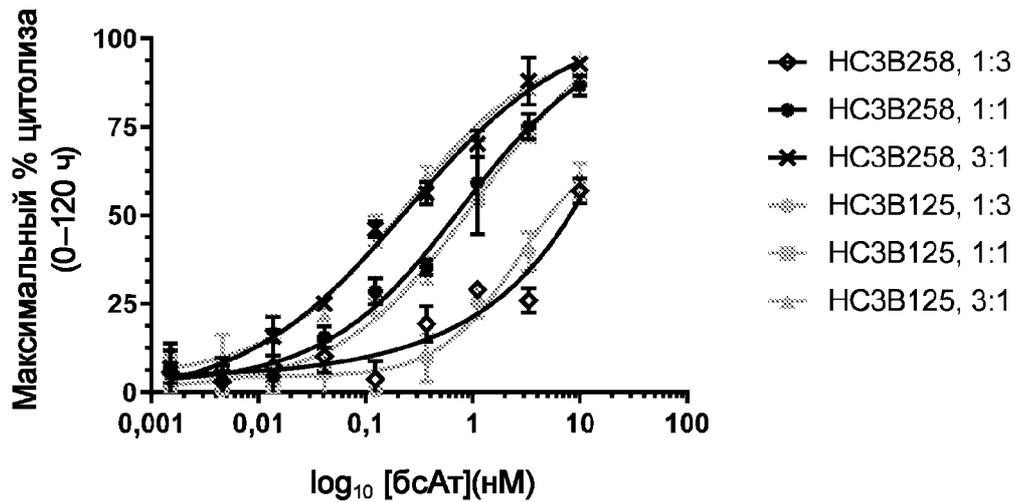


Фиг. 15Г

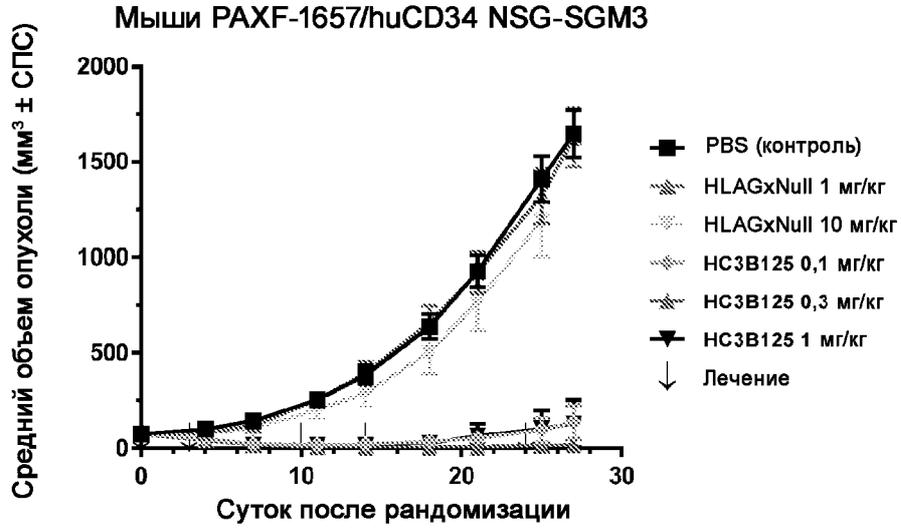


Фиг. 16

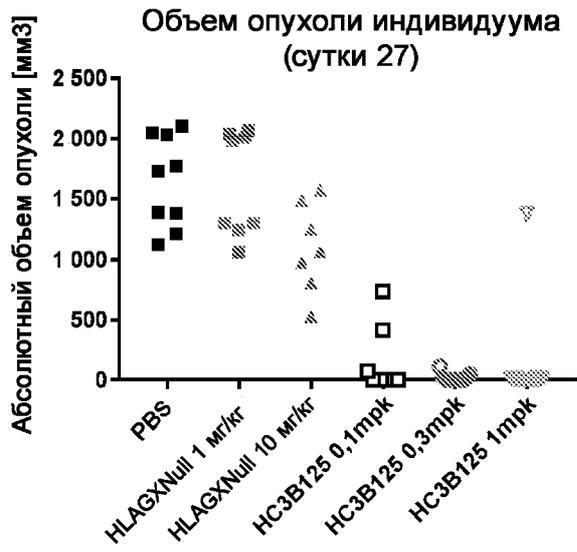
Цитотоксичность в Rerf-Ic-ad1,  
HC3B125 по сравнению с HC3B258,  
донор 1 (IS037986)



Фиг. 17А



Фиг. 17Б



Фиг. 18

