



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **84539** (13) **C2**  
(51) **МПК (2006)**

**C07K 16/28** (2008.01)

**C12N 5/20**

**C12N 15/63**

**C12N 15/13**

**A61K 39/395**

**A61P 35/00**

**A61P 37/00**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

**(54) ЛЮДСЬКЕ МОНОКЛОНАЛЬНЕ АНТИТІЛО, ЩО СПЕЦИФІЧНО ЗВ'ЯЗУЄТЬСЯ З CD40, ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ, ЩО ЙОГО МІСТИТЬ, ТА ЗАСТОСУВАННЯ АНТИТІЛА ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ CD40-НЕГАТИВНОЇ ПУХЛИНИ У ЛЮДИНИ**

1

2

(21) 20040604423

(22) 08.11.2002

(24) 10.11.2008

(86) PCT/US02/36107, 08.11.2002

(31) 60/348,980

(32) 09.11.2001

(33) US

(46) 10.11.2008, Бюл.№ 21, 2008 р.

(72) БЕДІАН ВАХЕ, ГЛЕЙДЬЮ РОНАЛД П., КОРВАЛАН ХОСЕ, ДЖІАКІАО-ЧІ, ФЕНГ КІАО

(73) ПФАЙЗЕР ПРОДАКТС ІНК., ЕМДЖЕН ФРІМОНТ ІНК.

(56) GROHMANN U ET AL: "CD40 ligation ablates the tolerogenic potential of lymphoid dendritic cells." JOURNAL OF IMMUNOLOGY (BALTIMORE, MD. : 1950) 1 JAN 2001, vol. 166, no. 1, 1 January 2001 (2001-01-01), pages 277-283, XP009076192 ISSN: 0022-1767.

TURNER J G ET AL: "Anti-CD40 antibody induces antitumor and antimetastatic effects: the role of NK cells." JOURNAL OF IMMUNOLOGY (BALTIMORE, MD. : 1950) 1 JAN 2001, vol. 166, no. 1, 1 January 2001 (2001-01-01), pages 89-94, XP009076193 ISSN: 0022-1767.

SZOCINSKI JAMIE L ET AL: "Activation-induced cell death of aggressive histology lymphomas by CD40 stimulation: Induction of bax" BLOOD, vol. 100, no. 1, 1 July 2002 (2002-07-01), pages 217-223, XP009076191 ISSN: 0006-4971.

MIERLO VAN G J D ET AL: "CD40 STIMULATION LEADS TO EFFECTIVE THERAPY OF CD40-TUMORS THROUGH INDUCTION OF STRONG SYSTEMIC CYTOTOXIC T LYMPHOCYTE IMMUNITY" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC, US, vol. 99, no. 8, 16 April 2002 (2002-04-16), pages 5561-5566, XP008046904 ISSN: 0027-8424.

US 6312693, 06.11.2001.

TODRYK S M ET AL: "CD40 LIGATION FOR IMMUNOTHERAPY OF SOLID TUMOURS"

JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., AMSTERDAM, NL, vol. 248, no. 1/2, 1 February 2001 (2001-02-01), pages 139-147, XP008046920 ISSN: 0022-1759 (ABSTRACT).

ALEXANDROFF ANTON B ET AL: "Role for CD40-CD40 ligand interactions in the immune response to solid tumours" MOLECULAR IMMUNOLOGY, vol. 37, no. 9, June 2000 (2000-06), pages 515-526, XP009076194 ISSN: 0161-5890 (ABSTRACT).

WO 9633735, 31.10.1996.

(57) 1. Людське моноклональне антитіло або його антигензв'язувальна частина, які специфічно зв'язуються з людським CD40, причому вказане антитіло або його антигензв'язувальна ділянка є агоністом CD40 і де антитіло містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, і при цьому амінокислотні послідовності CDR1, CDR2 і CDR3 вказаного важкого ланцюга і CDR1, CDR2 і CDR3 вказаного легкого ланцюга вибрані з групи, яка складається з (а) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:2 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:4, відповідно;

(б) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:2 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:94, відповідно;

(с) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:90 і амінокислотних по-

(13) **C2**

(11) **84539**

(19) **UA**

слідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:4, відповідно;

(d) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю з SEQ ID NO:90 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:94, відповідно;

(e) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:92 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:4, відповідно;

(f) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:92 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:94, відповідно;

(g) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:10 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:12, відповідно;

(h) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:18 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:20, відповідно;

(i) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:26 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:28, відповідно;

(j) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:34 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:36, відповідно;

(k) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:42 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:44, відповідно;

(l) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:50 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:52, відповідно;

(m) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:96 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:52, відповідно;

(n) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з

послідовністю SEQ ID NO:58 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:60, відповідно;

(o) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:66 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:68, відповідно;

(p) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:66 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:100, відповідно;

(q) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:98 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:68, відповідно;

(r) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:98 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:100, відповідно;

(s) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:74 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:76, відповідно;

(t) амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:82 і амінокислотних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельного домену легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO:84, відповідно.

2. Моноклональне антитіло або його антигензв'язувальна ділянка за п.1, які мають щонайменше одну з наступних властивостей:

(a) не зв'язуються з мишачими, щурячими, собачими і/або кролячими В-клітинами;

(b) зв'язуються з В-клітинами людини, макак-резусів та мавп циномогус;

(c) мають селективність відносно CD40, яка щонайменше в 100 разів вища, ніж їх селективність відносно рецепторного активатора ядерного фактора каппа-ланцюга В-клітин (RANK), 4-1BB (CD137), рецептора 1 фактора некрозу пухлини (TNFR-1) і рецептора 2 фактора некрозу пухлини (TNFR-2);

(d) зв'язуються з CD40 з  $K_D$   $4 \times 10^{-10}$  М або менше;

(e) мають показник для CD40  $K_{off}$ , що складає  $2 \times 10^{-10}$  або менше;

(f) інгібують ріст пухлини in vivo в присутності Т-клітин людини і/або дендритних клітин людини;

(g) інгібують ріст CD40-позитивних пухлин за відсутності імунних клітин людини;

(h) підвищують експресію ICAM, МНС-II, В7-2, CD71, CD23 і/або CD71 на поверхні В-клітин людини;

(i) збільшують секрецію IL-12p40, IL-12p70 і/або IL-



відно;

(b) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:2 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:94, відповідно;

(c) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:90 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:4, відповідно;

(d) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:90 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:94, відповідно;

(e) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:92 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:4, відповідно;

(f) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:92 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:94, відповідно;

(g) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:10 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:12, відповідно;

(h) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:18 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:20, відповідно;

(i) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:26 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:28, відповідно;

(j) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:34 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:36, відповідно;

(k) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:42 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:44, відповідно;

(l) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:50 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:52, відповідно;

(m) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:96 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:52, відповідно;

(n) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:58 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:60, відповідно;

(o) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:66 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:68, відповідно;

(p) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:66 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:100, відповідно;

(q) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:98 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:68, відповідно;

(r) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:98 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:100, відповідно;

(s) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:74 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:76, відповідно; і

(t) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:82 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:84, відповідно.

5. Моноклональне антитіло за п.1, в якому амінокислотні послідовності важкого ланцюга та легкого ланцюга вибрані з групи, яка складається з:

(a) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:6 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:8, відповідно, причому в обох вказаних амінокислотних послідовностях відсутня сигнальна послідовність;

(b) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:14 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:16, відповідно, причому в обох вказаних амінокислотних послідовностях відсутня сигнальна послідовність;

(c) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:22 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:24, відповідно, причому в обох вказаних амінокислотних послідовностях відсутня сигнальна послідовність;

(d) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:30 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:32, відповідно, причому в обох вказаних амінокислотних послідовностях відсутня сигнальна послідовність;

(e) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:38 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:40, відповідно, причому в обох вказаних амінокислотних послідовностях відсутня сигнальна послідовність;

(f) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:46 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:48, відповідно, причому в обох вказаних амінокислотних послідовностях відсутня сигнальна послідовність;

(g) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:54 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:56, відповідно, причому в обох вказаних амінокислотних послідовностях відсутня сигнальна послідовність;

(h) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:62 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:64, відповідно, причому в обох вказаних амінокислотних послідовностях відсутня сигнальна послідовність;

(i) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:70 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:72, відповідно, причому в обох вказаних амінокислотних послідовностях відсутня сигнальна послідовність;

(j) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:78 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:80, відповідно, причому в обох вказаних амінокислотних послідовностях відсутня сигнальна послідовність; і

(k) амінокислотної послідовності SEQ ID NO:86 і амінокислотної послідовності SEQ ID NO:88, відповідно, причому в обох вказаних амінокислотних послідовностях відсутня сигнальна послідовність.

6. Моноклональне антитіло за п.5, яке містить:

(a) амінокислотну послідовність SEQ ID NO:6 без сигнальної послідовності, в якій залишок 78 зрілої послідовності змінений з аланіну на треонін, залишок 88 зрілої послідовності змінений з валіну на аланін і залишок 97 зрілої послідовності змінений з валіну на аланін, і

(b) амінокислотну послідовність SEQ ID NO:8 без сигнальної послідовності, в якій залишок 4 зрілої послідовності змінений з лейцину на метіонін, а залишок 83 зрілої послідовності змінений з лейцину на валін.

7. Моноклональне антитіло за п.5, яке містить:

(a) амінокислотну послідовність SEQ ID NO:46 без сигнальної послідовності, і

(b) амінокислотну послідовність SEQ ID NO:48 без сигнальної послідовності.

8. Фармацевтична композиція, яка містить антитіло або його антигензв'язувальну ділянку за будь-яким з пп.1-7 і фармацевтично прийнятний носій.

9. Застосування антитіла або антигензв'язувальної ділянки за будь-яким з пп.1-7 для виробництва лікарського засобу для лікування злоякісної пухлини у людини.

10. Застосування антитіла або анти-



гензв'язувальної ділянки за будь-яким з пп.1-7 для виробництва лікарського засобу для посилення імунної відповіді у людини.

11. Виділена клітинна лінія, яка продукує антитіло або його антигензв'язувальну частину за будь-яким з пп.1-7 або важкий ланцюг або легкий ланцюг вказаного антитіла або його антигензв'язувальну ділянку.

12. Виділена молекула нуклеїнової кислоти, яка містить нуклеотидну послідовність, що кодує важкий ланцюг або його антигензв'язувальну ділянку або легкий ланцюг або його антигензв'язувальну ділянку антитіла за будь-яким з пп.1-7.

13. Виділена молекула нуклеїнової кислоти за п.12, яка містить нуклеотидну послідовність, вибрану з групи, що складається з:

(а) нуклеотидної послідовності, що кодує амінокислотну послідовність важкого ланцюга антитіла або антигензв'язувальної ділянки антитіла, вибраного з групи, яка складається з 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1L-L4M-L83V, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A/3.1.1L-L4M-L83M, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1L-C92A, 23.28.1H-D16E, 23.28H-D16E/23.28.1L-C92A, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K і 24.2.1, або вказану амінокислотну послідовність, яка не містить сигнальну послідовність;

(б) нуклеотидної послідовності, яка кодує амінокислотну послідовність легкого ланцюга або його антигензв'язувальної ділянки антитіла, вибраного з групи, що складається з 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1L-L4M-L83V, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A/3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1L-C92A, 23.28.1H-D16E, 23.28H-D16E/23.28.1L-C92A, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K і 24.2.1, або вказану амінокислотну послідовність, яка не містить сигнальну послідовність;

(с) нуклеотидної послідовності, яка кодує амінокислотну послідовність важкого ланцюга або його варіабельний домен, вибрані з групи, що складається з SEQ ID NO:2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34,

38, 42, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 92, 96 і 98, або вказані амінокислотні послідовності, які не містять сигнальної послідовності, якщо вона присутня; і

d) нуклеотидної послідовності, що кодує важкий ланцюг або його варіабельний домен, причому вказана нуклеотидна послідовність вибрана з групи, яка складається з SEQ ID NO:1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57, 61, 65, 69, 73, 77, 81, 85, 89, 91, 95 і 97, або вказана послідовність не містить сигнальної послідовності, якщо вона присутня;

e) нуклеотидної послідовності, яка кодує амінокислотну послідовність легкого ланцюга або його варіабельний домен, вибрані з групи, що складається з SEQ ID NO:4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 44, 48, 52, 56, 60, 64, 68, 72, 76, 80, 84, 88, 94, 100 і 102, або вказану амінокислотну послідовність, яка не містить сигнальної послідовності, і

f) нуклеотидної послідовності, що кодує легкий ланцюг або його варіабельний домен, причому вказана нуклеотидна послідовність вибрана з групи, яка складається з SEQ ID NO:3, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 31, 35, 39, 43, 47, 51, 55, 59, 63, 67, 71, 75, 79, 83, 87, 93, 99 і 101, або вказана послідовність не містить сигнальної послідовності, якщо вона присутня.

14. Вектор, що містить молекулу нуклеїнової кислоти за пп.12 або 13, де вказаний вектор необов'язково містить послідовність, яка контролює експресію, оперативно зв'язану з молекулою нуклеїнової кислоти.

15. Клітина-хазяїн, яка містить вектор за п.14 або молекулу нуклеїнової кислоти за п.13.

16. Спосіб отримання анти-CD40-антитіла або його антигензв'язувальної ділянки, що передбачає культивування клітини-хазяїна за п.15 або клітинної лінії за п.11 у відповідних умовах і виділення вказаного антитіла або його антигензв'язувальної ділянки.

17. Застосування антитіла за п.1 для виробництва лікарського засобу для лікування CD40-негативної пухлини у людини.

Дана заявка має пріоритет відповідно до попередньої [заявки США №60/348980, поданої 9 листопада 2001р.].

Антиген CD40 являє собою 50кДа глікопротеїн клітинної поверхні, який відноситься до сімейства рецепторів фактора некрозу пухлин (TNF-R). [Stamenkovic et al., EMBO J. 8: 1403-10 (1989)]. CD40 експресується в багатьох типах нормальних і пухлинних клітин, включаючи В-лімфоцити, дендритні клітини, моноцити, макрофаги, епітелій вилочкової залози, ендотеліальні клітини, фібробласти, і клітини гладкої мускулатури. [Paulie S. et al., Cancer Immunol. Immunother. 20: 23-8 (1985); Banchereau J. et al., Adv. Exp. Med. & Biol. 378: 79-83 (1995); Alderson M.R. et al., J. of Exp. Med. 178: 669-74 (1993); Ruggiero G. et al., J. of Immunol. 156:

3737-46 (1996); Hollenbaugh D. et al., J. of Exp. Med. 182: 33-40 (1995); Yellin M.J. et al., J. of Leukocyte Biol. 58: 209-16 (1995); i Lazaar A.L. et al., J. of Immunol. 161: 3120-7 (1998)]. CD40 експресується у всіх В-лімфомах і у 70% всіх солідних пухлин. Незважаючи на конститутивну експресію, CD40 добре регулюється в антигенпрезентуючих клітинах за допомогою сигналів дозрівання, таких як LPS, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  і GM-CSF.

Активация CD40 грає вирішальну роль в регуляції гуморальної і клітинної імунних відповідей. Антигенна презентація без активації CD40 може привести до толерантності, а CD40-сигналізація може обернути таку толерантність, посилити антигенну презентацію за допомогою всіх антигенпрезентуючих клітин (АПК), привести до секреції жел-

перних цитокінів і хемокинів, підвищити експресію ко-стимулюючих молекул і передачу сигналів, а також стимулювати цитолітичну активність імунних клітин.

CD40 грає ключову роль в проліферації В-клітин, дозріванні і перемиканні класу імуноглобулінів. [Foy T.M. et al., *Ann. Rev. of Immunol.* 14: 591-617 (1996)]. Порушення сигнального шляху CD40 веде до аномального розподілу ізотипів сироваткового імуноглобуліну, до відсутності CB4+-Т-клітинного примування і до дефектів вторинних гуморальних відповідей. Наприклад, Х-зчеплений синдром надмірного утворення IgM являє собою захворювання, пов'язане з мутацією у людини гена CD40L, яке характеризується нездатністю уражених індивідів виробляти антитіла, відмінні від IgM-ізополу, і що свідчать про те, що для ефективної імунної відповіді необхідна продуктивна взаємодія між CD40 і CD40L.

Захоплення CD40 за допомогою CD40L приводить до асоціації цитоплазматичного домена CD40 з TRAF (TNF-R-асоційовані фактори). [Lee H.H. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 1421-6 (1999); Pullen S.S. et al., *Biochemistry* 37: 11836-45 (1998); Grammar A.C. et al., *J. of Immunol.* 161: 1183-93 (1998); Ishida TAK YAK et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 9437-42 (1996); Pullen S.S. et al., *J. of Biol. Chem.* 274: 14246-54 (1999)]. Така взаємодія з TRAF може завершувати активацію обох шляхів - NFkB і Jun/API. [Tsukamoto N. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 1234-9 (1999); Sutherland C.L. et al., *J. of Immunol.* 162: 4720-30 (1999)]. В залежності від типу клітин, дана сигналізація приводить до посилення секреції цитокінів, таких як IL-6 [Jeppson J.D. et al., *J. of Immunol.* 161: 1738-42 (1998); Uejima Y. et al., *Int. Arch. of Allergy & Immunol.* 110: 225-32, (1996)], IL-8 [Gruss H.J. et al., *Blood* 84: 2305-14 (1994); von Leoprechting A. et al., *Cancer Res.* 59: 1287-94 (1999); Denfeld R.W. et al., *Europ. J. of Immunol.* 26: 2329-34 (1996)], IL-12 [Cella M. et al., *J. of Exp. Med.* 184: 747-52 (1996); Ferlin W.G. et al., *Europ. J. of Immunol.* 28: 525-31 (1998); Armant M. et al., *Europ. J. of Immunol.* 26: 1430-4 (1996); Koch F. et al., *J. of Exp. Med.* 184: 741-6 (1996); Seguin R. and L.H. Kasper, *J. of Infect. Diseases* 179: 467-74 (1999); Chaussabel D. et al., *Infection & Immunity* 67: 1929-34 (1999)], IL-15 [Kuniyoshi J.S. et al., *Cellular Immunol.* 193: 48-58 (1999)] і хемокинів [MIP1 $\alpha$ , MIP1 $\beta$ , RANTES і інші] [McDyer J.F. et al., *J. of Immunol.* 162: 3711-7 (1999); Schaniel C. et al., *J. of Exp. Med.* 188: 451-63 (1998); Altenburg A. et al., *J. of Immunol.* 162: 4140-7 (1999); Deckers J.G. et al., *J. of the Am. Society of Nephrology* 9: 1187-93 (1998)], підвищує експресію МНС класу I і II (Santos-Argumedo L. et al., *Cellular Immunol.* 156: 272-85 (1994)], і підвищує експресію адгезивних молекул (наприклад, ICAM) [Lee H.H. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 1421-6 (1999); Grousson J. et al., *Archives of Dermatol. Res.* 290: 325-30 (1998); Katada Y. et al., *Europ. J. of Immunol.* 26: 192-200 (1996); Mayumi M. et al., *J. of Allergy & Clin. Immunol.* 96: 1136-44 (1995); Flores-Romo L. et al., *Immunol.* 79: 445-51 (1993)] і ко-стимулюючих молекул (наприклад, B7) [Roy M. et al., *Europ. J. of Immunol.* 25: 596-603 (1995); Jones K.W. and C.J.

Hackett, *Cellular Immunol.* 174: 42-53 (1996); Caux C. et al., *Journal of Exp. Med.* 180: 1263-72 (1994); Kiener P.A. et al., *J. of Immunol.* 155: 4917-25 (1995)]. Цитокини індукували внаслідок захоплення CD40, що підвищує виживаність і активацію Т-клітин.

Крім посилення клітинної і імунної функції, ефекти CD40-активації включають в себе рекрутинг клітин і їх диференціювання за допомогою хемокинів і цитокінів; активацію моноцитів, підвищення цитолітичної активності цитолітичних Т-лімфоцитів (CTL) і природних кілерних (NK) клітин; індукцію апоптозу в CD40-позитивних злоякісних пухлинах; посилення імуногенності CD40-позитивних злоякісних пухлин; і утворення антитіл, специфічних відносно злоякісних пухлин. Встановлена також роль CD40-активації в опосередкованій клітиною імунних відповідей, яка розглядається у Grewall et al., *Ann. Rev. of Immunol.* 16: 111-35 (1998); Mackey et al., *J. of Leukocyte Biol.* 63: 418-28 (1998); і Noelle R.J., *Agents & Actions - Suppl.* 49: 17-22 (1998)].

Дослідження з використанням модельної системи перехресного примування показують, що CD40-активація АПК може замінити потребу в хелперних Т-клітинах, необхідних для утворення цитолітичних Т-лімфоцитів (CTL). [Bennett et al., *Nature* 393: 478-480 (1998)]. Дані, отримані на мишах з недостатньою кількістю CD40L, свідчать про явну потребу в CD40-сигналах для ініціації хелперних Т-клітин. [Grewal I.S. et al., *Science* 273: 1864-7 (1996); Grewal L.S. et al., *Nature* 378: 617-20 (1995)]. CD40-активація перетворює в іншому випадку толерогенні, антиген несучі В-клітини в компетентні АПК. [Buhlmann J.E. et al., *Immunity* 2: 645-53 (1995)]. CD40-активація індукує дозрівання і диференціювання клітин-попередників пуповинної крові в дендритні клітини. [Flores-Romo L. et al., *J. of Exp. Med.* 185: 341-9 (1997); Mackey M.F. et al., *J. of Immunol.* 161: 2094-8 (1998)]. CD40-активація індукує також диференціювання моноцитів в функціональні дендритні клітини. [Brossart P. et al., *Blood* 92: 4238-47 (1998)]. Крім того, CD40-активація підвищує цитолітичну активність NK-клітин за допомогою АТІК-CD40 індукованих цитокінів. [Carbone E. et al., *J. of Exp. Med.* 185: 2053-60 (1997); Martin-Fontecha A. et al., *J. of Immunol.* 162: 5910-6 (1999)]. Дані спостереження свідчать про те, що CD40 грає істотну роль в ініціації і посиленні імунних відповідей шляхом індукції дозрівання АПК, секреції хелперних цитокінів, поліпшеної регуляції ко-стимулюючих молекул, а також в посиленні ефекторних функцій.

Ключова роль CD40-сигналів в ініціації і розвитку гуморальної і цитотоксичної імунних відповідей робить дану систему ідеальною мішенню для імунного посилення. Таке посилення може бути особливо важливим для підтримки ефективних імунних відповідей на антигени злоякісних пухлин, які, як правило, представляються імунній системі через примування перехреснореагуючим антигеном активованих АПК. [Huang A.Y. et al., *Ciba Foundation Symp.* 187: 229-44 (1994); Toes R.E.M. et al., *Seminars in Immunol.* 10: 443-8 (1998); Albert M.L. et al., *Nature* 392: 86-9 (1998); Bennett S.R. et

al., J. of Exp. Med. 186: 65-70 (1997)].

Декілька груп дослідників продемонстрували ефективність CD40-активації відносно протипухлинних відповідей *in vitro* і *in vivo*. [Toes R.E.M. et al., *Seminars in Immunol.* 10: 443-8 (1998)]. Дві групи дослідників, використовуючи модель легеневи метастазів нирковоклітинної карциноми і підшкірні пухлини, викликані за допомогою трансформованих вірусом клітин, незалежно показали, що активація CD40 може обернути толерантність до пухлиноспецифічних антигенів, викликаючи ефективну протипухлинну ініціацію Т-клітин. [Sotomayor E.M. et al., *Nature Medicine* 5: 780-787 (1999); Diehl L. et al., *Nature Medicine* 5: 774-9 (1999)]. Про протипухлинну активність за відсутності імунних клітин повідомляється також для обробленої з допомогою CD40L і антитіла до CD40 моделі лінії злоякісних клітин молочної залози людини у SCID-мишей [Hirano A. et al., *Blood* 93: 2999-3007 (1999)]. На мишах моделі недавно показана ліквідація лімфом CD40+ і CD40- внаслідок CD40-активації за допомогою антитіла до CD40. [French R.R. et al., *Nature Medicine* 5: 548-53 (1999)]. Більше того в попередніх дослідженнях Glennie і співавторів зроблений висновок про те, що сигнальна активність антитіла до CD40 більш ефективна для індукції кліренсу пухлини *in vivo* ніж сигнальна активність інших антитіл до поверхневих маркерів, здатних викликати рекрутинг ефektorів. [Tutt A.L. et al., *J. of Immunol.* 161: 3176-85 (1998)]. Згідно з цими спостереженнями, при тестуванні антитіла до CD40 на активність проти CD40+ злоякісних клітин *in vivo* в більшості випадків, хоч і не завжди, туморицидна активність асоціюється швидше з CD40-сигналом ніж з ADCC. [Funakoshi S. et al., *J. of Immunotherapy with Emphasis on Tumor Immunol.* 19: 93-101 (1996)]. В іншому дослідженні дендритні клітини кісткового мозку обробляли *ex vivo* різними агентами, і тестували *in vivo* протипухлинну активність. Ці дослідження показали, що ДК, стимульовані CD40L, є найбільш зрілими і найбільш ефективними клітинами, що підвищують протипухлинну відповідь.

Істотна роль CD40 в протипухлинному імунітеті показана також при порівнянні відповідей на протипухлинні вакцини у мишей дикого типу і у мишей CD40<sup>-/-</sup>. Ці дослідження показали, що миші CD40<sup>-/-</sup> не здатні реалізувати протипухлинний імунітет, властивий нормальним мишам. [Maskey M.F. et al., *Cancer Research* 57: 2569-74 (1997)]. В іншому дослідженні спленоцити мишей, носіїв пухлини, стимульовані пухлинними клітинами і оброблені активуючими *ex vivo* антитілами до CD40, показали підвищену пухлиноспецифічну CTL-активність. [Donerudi M. et al., *Cancer Immunol. Immunother.* 48: 153-164 (1999)]. Ці дослідження показали, що CD40 займає ключову позицію в протипухлинному імунітеті, як в позитивних, так і в негативних по CD40 злоякісних пухлинах. Оскільки CD40 експресується в лімфомах, лейкозі, множинній мієломі, в більшості карцином носоглотки, сечового міхура, яєчника і печінки, а також в деяких карциномах молочної залози і прямої кишки, активація CD40 може мати широкий діапазон клінічного застосування.

Активація моноклональних антитіл до CD40 може сприяти ліквідації злоякісної пухлини за допомогою декількох важливих механізмів. Перший з них полягає в активації хазяйських дендритних клітин для посилення процесингу пухлинного антигена і його презентації, а також підвищення антигенної презентації або імуногенності самих пухлинних CD40-позитивних клітин, що приводить до активації пухлиноспецифічних CD4<sup>+</sup> і CD8<sup>+</sup> лімфоцитів. Додаткова протипухлинна активність може бути опосередкована іншими посилюючими імунітет ефектами CD40-сигналів (вироблення хемокінів і цитокінів, набір і активування моноцитів, підвищення CTL- і NK-цитолітичної активності), а також прямим знищенням CD40<sup>+</sup>-пухлин внаслідок індукції апоптозу або шляхом стимуляції гуморальної відповіді, що приводить до ADCC. Клітини апоптозної і гинучої пухлини можуть також бути важливим джерелом пухлиноспецифічних антигенів, якими процесуються і презентуються АПК, активованими CD40.

Відповідно до викладеного, існує гостра необхідність в терапевтичних, клінічно придатних антитілах проти CD40-агоністів.

На Фіг.1A-1H представлені вирівнювання передбачених амінокислотних послідовностей для виділених варіабельних доменів легкого і важкого ланцюгів моноклонального антитіла до CD40 з амінокислотними послідовностями відповідних легкого і важкого ланцюгів генів зародкової лінії. Відмінності між клонами і відповідною послідовністю зародкової лінії відтінені. Послідовності зародкових ліній CDR1, CDR2 і CDR3 підкреслені. У вирівняних послідовностях важкого ланцюга поява інсерцій на CDR3-ділянці в послідовності зародкової лінії вказано знаком тире (-), а поява в послідовності даного клону делеції в CDR3-ділянці вказані знаком тире (-).

Фіг.1A: передбачені амінокислотні послідовності варіабельної ділянки легкого каппа-ланцюга з монАТ 3.1.1 і 7.1.2 з  $V_k=A3/A19$  і  $J=J_{k1}$  амінокислотні послідовності гена зародкової лінії.

Фіг.1B: амінокислотні послідовності передбаченої варіабельної ділянки легкого каппа-ланцюга з клона 15.1.1 і амінокислотна послідовність ( $V_k=A3/A19$  і  $J=J_{k2}$ ) клітин зародкової лінії;

Фіг.1C: амінокислотні послідовності передбаченої варіабельної ділянки легкого каппа-ланцюга з монАТ 10.8.3 і 21.4.1 і амінокислотна послідовність ( $V_k=L5$  (DP5) і  $J=J_{k4}$ ) клітин зародкової лінії;

Фіг.1D: амінокислотна послідовність передбаченої варіабельної ділянки важкого ланцюга з монАТ 3.1.1 і амінокислотна послідовність ( $V_H=3-30+(DP-49)$ ,  $D=D4+DIR3$  і  $J=J_{H6}$ ) клітин зародкової лінії;

Фіг.1E: амінокислотна послідовність передбаченої варіабельної ділянки важкого ланцюга з монАТ 7.1.2 і амінокислотна послідовність ( $V_H=3-30+(DP-49)$ ,  $D=DIR5+D1-26$  і  $J=J_{H6}$ ) клітин зародкової лінії;

Фіг.1F: амінокислотні послідовності передбаченої варіабельної ділянки важкого ланцюга з монАТ 10.8.3 і амінокислотна послідовність ( $V_H=4.35$  (VIV-4),  $D=DIR3$  і  $J=J_{H6}$ ) клітин зародкової лінії;

Фіг.1G: амінокислотні послідовності передбаченої варіабельної ділянки важкого ланцюга з монАТ 10.8.3 і амінокислотна послідовність ( $V_H=4.35$  (VIV-4),  $D=DIR3$  і  $J=J_{H6}$ ) клітин зародкової лінії;

ченої варіабельної ділянки важкого ланцюга з монАТ 15.1.1 і амінокислотна послідовність ( $V_H=4-59$  (DP-71),  $D=D4-23$  і  $J=J_H4$ ) клітин зародкової лінії;

Фіг.1Н: амінокислотні послідовності передбаченої варіабельної ділянки важкого ланцюга з монАТ 21.4.1 і амінокислотна послідовність ( $V_H=1-02$  (DP-75),  $D=DLR1$  і  $J=J_H4$ ) клітин зародкової лінії.

На Фіг.2А-2Н представлено вирівнювання передбачених амінокислотних послідовностей виділених доменів легкого і важкого ланцюга моноклонального антитіла до CD40 і амінокислотних послідовностей відповідних легкому і важкому ланцюгу генів зародкової лінії. Відмінності між клонами і даною послідовністю зародкової лінії виділені жирним шрифтом. Послідовності клітин зародкової лінії CDR1, CDR2, і CDR3 підкреслені. При вирівнюванні послідовностей важкого ланцюга поява вставок на CDR3-ділянці зародкової лінії вказана знаком тире (-), а поява в послідовності даного клона делеції в CDR3-ділянці вказана знаком тире (-).

Фіг.2А: передбачені амінокислотні послідовності легкого каппа-ланцюга з монАТ 22.1.1, 23.5.1, і 23.29.1 і амінокислотна послідовність ( $V_K=A3/A19$  і  $J=J_K1$ ) клітин зародкової лінії;

Фіг.2В: передбачені амінокислотні послідовності легкого каппа-ланцюга з монАТ 21.2.1 і амінокислотна послідовність ( $V_K=A3/A19$  і  $J=J_K3$ ) клітин зародкової лінії;

Фіг.2С: передбачені амінокислотні послідовності легкого каппа-ланцюга з монАТ 23.28.1, 23.28.1 L-C92A і 24.2.1 і амінокислотна послідовність ( $V_K=A27$  і  $J=J_K3$ ) клітин зародкової лінії;

Фіг.2В: передбачена амінокислотна послідовність важкого ланцюга з монАТ 21.2.1 і амінокислотна послідовність ( $V_H=3-30+$ ,  $D=DIR3+D6-19$  і  $J=J_H4$ ) клітин зародкової лінії;

Фіг.2Е: передбачена амінокислотна послідовність важкого ланцюга з монАТ 21.1.1, 22.1.1 H-C109A і амінокислотна послідовність ( $V_H=3-30+$ ,  $D=D1-1$  і  $J=J_H6$ ) клітин зародкової лінії;

Фіг.2F: передбачений важкий ланцюг амінокислотної послідовності з монАТ 23.5.1 і амінокислотна послідовність ( $V_H=3-30+$ ,  $D=D4-17$  і  $J=J_H6$ ) клітин зародкової лінії;

Фіг.2G: передбачена амінокислотна послідовність важкого ланцюга з монАТ 23.29.1 і амінокислотна послідовність ( $V_H=3-30.3$ ,  $D=D4-17$  і  $J=J_H6$ ) клітин зародкової лінії;

Фіг.2Н: передбачені амінокислотні послідовності важкого ланцюга з монАТ 23.28.1, 23.28.1 H-D16E і 24.2.1 і амінокислотна послідовність клітин зародкової лінії ( $V_H=4-59$ ,  $D=DIR1+D4-17$  і  $J=J_H5$ ).

На Фіг.3 представлена крива залежності "доза-ефект", яка ілюструє здатність антитіла проти CD40 згідно з винаходом (21.4.1) підвищувати утворення IL-12p40 дендритними клітинами людини.

На Фіг.4 представлена крива залежності "доза-ефект", яка ілюструє здатність антитіла проти CD40 згідно з винаходом (21.4.1) підвищувати утворення IL-12p70 дендритними клітинами людини.

На Фіг.5 представлений графік, який ілюструє здатність антитіла проти CD40 згідно з винаходом

(21.4.1) підвищувати імуногенність стимулюючих клітин  $J_u$  і посилювати CTL-активність проти клітин-мішеней  $J_u$ .

На Фіг.6 представлена крива інгібування росту злоякісної пухлини, яка ілюструє зниження росту позитивних по CD40 злоякісних пухлин Daudi у SCID-beige мишей, оброблених антитілом до CD40 (21.4.1) згідно з винаходом.

На Фіг.7 представлена крива інгібування росту злоякісної пухлини, яка ілюструє зниження росту негативних по CD40 злоякісних пухлин K562 у мишей SCID-beige, оброблених антитілом до CD40 (21.4.1) згідно з винаходом і дендритними клітинами людини, а також Т-клітинами.

На Фіг.8 показане інгібування росту негативних по CD40 злоякісних пухлин K562 у SCID-мишей різними концентраціями агоністу монАТ 23.29.1 до CD40.

На Фіг.9 показане інгібування росту негативних по CD40 злоякісних пухлин K562 різними концентраціями агоністу монАТ 3.1.1 до CD40.

На Фіг.10 показане інгібування росту позитивних по CD40 злоякісних пухлин Raj і в присутності або відсутності Т-клітин і дендритних клітин у SCID-мишей з допомогою агоніста монАТ до CD40.

На Фіг.11 показане інгібування росту позитивних по CD40 злоякісних пухлин Raji у SCID-мишей за допомогою агоністу антитіл до CD40.

На Фіг.12 показане інгібування росту клітин BT 474 злоякісної пухлини молочної залози у мишей SCID-beige за допомогою агоністу антитіл до CD40.

На Фіг.13 показане інгібування росту злоякісних пухлин PC-3 передміхурової залози у мишей SCID-beige за допомогою агоністу антитіл до CD40.

На Фіг.14 представлена крива виживаності для мишей SCID-beige, ін'єктованих (iv) злоякісними клітинами Daudi і оброблених агоністом антитіл до CD40.

На Фіг.15 представлений Вестерн-блот-аналіз до CD40-агоністу антитіл для редукованого (R) і нередукованого (NR) CD40 людини.

На Фіг.16 представлені результати вирівнювання D1-D4-доменів CD40 миші і людини.

На Фіг.17 представлені результати вирівнювання амінокислотних послідовностей CD40 миші і людини, що демонструють положення сайтів злиття в даних химерах.

На Фіг.18 схематично представлена група діаграм для химерних CD40-конструкцій.

У даному винаході представлено виділене антитіло, або його антигензв'язувальна частина, які зв'язують CD40 і діють як CD40-агоністи.

У даному винаході представлена композиція, що містить антитіло до CD40 або його антигензв'язувальну частину, і фармацевтично прийнятний носій. Крім того, створена композиція може включати в себе другий компонент, такий як протипухлинний агент або візуалізуючий агент. У даному винаході розроблені також діагностичні і терапевтичні способи.

У даному винаході представлена виділена клітинна лінія, така як гібридома, яка виробляє анти-

тіло до CD40 або його антигензв'язувальна частина.

У даному винаході представлені також молекули нуклеїнових кислот, кодує який і/або легкий ланцюг антитіла до CD40 або його антигензв'язувальна частина.

У даному винаході представлені вектори і хазяїські клітини, що містять молекули нуклеїнових кислот, а також способи рекомбінантного отримання поліпептидів, що кодуються молекулами нуклеїнових кислот.

Передбачені також ті, що не належать людському роду трансгенні тварини, які експресують важкий і/або легкий ланцюг антитіла до CD40 або його антигензв'язувальну частину.

У даному винаході розроблений також спосіб лікування пацієнта, потребуючого цього, ефективною кількістю молекул нуклеїнової кислоти, що кодує важкий і/або легкий ланцюг антитіла до CD40 або його антигензв'язувальну частину.

Визначення і загальні методики

За винятком особливо обумовлених випадків, наукові і технічні терміни, що використовуються в зв'язку з даним винаходом, мають на увазі їх звичайне розуміння рядовими фахівцями в даній галузі. Крім того, якщо не обумовлено в контексті, вживання термінів в однині має на увазі також і множинне тлумачення, і навпаки. Взагалі термінологія і методи, що використовуються застосовно до культури клітин і культури тканин, до молекулярної біології, імунології, мікробіології, генетики, а також до білкової хімії і хімії нуклеїнових кислот і описаної тут гібридизації, являють собою добре відому термінологію і методи, що звичайно використовуються в даній галузі.

Способи і методи даного винаходу, як правило, здійснюють відповідно до традиційних способів, добре відомих в даній галузі, а також описаних в різних загальних і більш конкретних посиланнях, які цитуються і обговорюються в даному описі, якщо не вказано інакше. [Див., наприклад, Sarabrook et al. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989) і Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates (1992), а також Harlow and Lane *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990)], які включені тут шляхом посилання. Ферментативні реакції і методи виділення очищенням здійснюють відповідно до інструкцій виробників, як звичайно прийнято в даній галузі або як описано тут. Термінологія, що використовується в зв'язку з цим, а також лабораторні операції і методи аналітичної хімії, синтетичної органічної хімії, а також медичної і фармацевтичної хімії, що описуються тут, відносяться до лабораторних операцій і методів, добре відомих і звичайно що використовується в даній галузі. Стандартні методи використовують для хімічного синтезу, хімічного аналізу, для отримання фармацевтичного препарату, в технології приготування лікарського засобу, а також для доставки і лікування пацієнтів.

Якщо не вказано інакше, нижченаведені терміни мають наступні значення:

Термін "поліпептид" має на увазі природні або синтетичні білки, білкові фрагменти і поліпептидні аналоги білкової послідовності. Поліпептид може бути мономерним або полімерним.

Термін "виділений білок", "виділений поліпептид" або "виділене антитіло" являє собою білок, поліпептид або антитіло, яке внаслідок свого походження або джерела отримання (1) не асоціюється з природно пов'язаними компонентами, які супроводжують його в своєму нативному стані, (2) вільне від інших білків з одних і тих же видів, (3) експресується клітинами різних видів або (4) не зустрічається в природі. Таким чином, поліпептид, який хімічно синтезований або синтезований в клітинній системі, відмінний від клітини, з якої він природним чином виник, повинен бути "виділеним" з своїх природно пов'язаних компонентів. Будь-який білок можна також практично звільнити від природно пов'язаних компонентів шляхом виділення, застосовуючи методи виділення очищення білка, добре відомі в даній галузі.

Приклади виділених антитіл включають в себе антитіло до CD40, яке виділяють шляхом очищення по спорідненості з використанням CD40, антитіло до CD40, яке синтезують за допомогою гібридомної або іншої лінії клітин *in vitro*, і антитіло людини до CD40, що отримується з трансгенної миші.

Білок або поліпептид є "практично чистим", "практично гомогенним", або "практично очищеним", якщо щонайменше близько 60-75% зразка представлено одним видом поліпептиду. Даний білок або поліпептид може бути мономерним або мультимерним. Практично чистий поліпептид або білок звичайно містить близько 50%, 60%, 70%, 80% або 90% мас/мас, білкового зразка, частіше близько 95%, і переважно понад 99% чистоти. Міру очищення білка або міру гомогенності можна показати декількома способами, добре відомими в даній галузі, такими як електрофорез білкового зразка в поліакриламідному гелі з подальшою візуалізацією одиночної поліпептидної смуги після забарвлення гелю барвником, добре відомим в даній галузі. Для деяких цілей, що стосується виділення очищенням, високе розрізнення можна отримати шляхом використання ВЕРХ або іншими способами, добре відомими в даній галузі.

Термін "поліпептидний фрагмент", що використовується тут, відноситься до поліпептиду, який має амінокінцеву і/або карбоксикінцеву делецію, а інша амінокислотна послідовність ідентична по відповідних положеннях послідовності, що зустрічається в природі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу довжина фрагментів складає щонайменше 5, 6, 8 або 10 амінокислот. В інших варіантах здійснення даного винаходу довжина фрагментів складає щонайменше 14, щонайменше 20, щонайменше 50, або щонайменше 70, 80, 90, 100, 150 або 200 амінокислот.

Термін "поліпептидний аналог", що використовується тут, відноситься до поліпептиду, який включає в себе сегмент, практично ідентичний частині амінокислотної послідовності і який володіє щонайменше наступними характеристиками:

(1) специфічно зв'язується з CD40 у відповід-

них умовах зв'язування, (2) здатний активувати CD40, (3) здатний добре регулювати експресію молекул на поверхні клітини, таких як ICAM, MHC-II, B7-1, B7-2, CD71, CD23 і CD83, або (4) здатний підвищувати секрецію цитокінів, таких як IFN- $\beta$ 1, IL-2, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18 і IL-23. Як правило, поліпептидні аналоги включають в себе консервативну амінокислотну заміну (або вставку або делецію) у послідовності, що зустрічається в природі. Як правило, аналоги містять в довжину щонайменше 20 або 25 амінокислот, переважно щонайменше 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150 або 200 амінокислот або більше, і часто можуть володіти такою ж довжиною, як і повнорозмірний поліпептид, що зустрічається в природі.

Переважаючими амінокислотними замінами є ті, які (1) зменшують чутливість до протеолізу, (2) зменшують чутливість до окислення, (3) змінюють спорідненість до зв'язування при утворенні білкових комплексів і (4) додають або модифікують інші фізико-хімічні або функціональні характеристики таких аналогів. Аналоги можуть містити різні зміни послідовності, відмінні від змін в пептидній послідовності, що зустрічається в природі. Наприклад, одиночну або множинні амінокислотні заміни (переважно консервативні амінокислотні заміни) можна створити в послідовності, що зустрічається в природі (переважно на ділянці поліпептиду, що знаходиться поза доменом(ами), що утворює мікмолекулярні контакти). Консервативна амінокислотна заміна не повинна істотно змінювати структурні характеристики батьківської послідовності (наприклад, заміна амінокислоти не повинна приводити до руйнування спіралі, яка існує в даній батьківській послідовності, або руйнувати інші види вторинної структури, яка характеризує дану батьківську послідовність). Приклади загальновідомих вторинних і третинних поліпептидних структур описані в [Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., W.H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Protein Structure (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, and Thornton et al., Nature 354: 105 (1991))], кожна з яких включена в даний опис шляхом посилання.

Непептидні аналоги звичайно використовують в фармацевтичній промисловості у вигляді лікарських засобів з характеристиками, аналогічними характеристикам даного матричного пептиду. Дані види непептидної фармацевтичної сполуки називають "пептидними міметиками" або "пептидоміметиками", [Fauchere, J. Adv. Drug Res. 15: 29 (1986); Veber and Freidinger, TINS p.392 (1985); i Evans et al., J. Med. Chem. 30: 1229 (1987)], включені тут шляхом посилання. Такі сполуки часто створюють за допомогою комп'ютерного молекулярного моделювання. Пептидні міметики, які структурно схожі з терапевтично придатними пептидами, можна використати для отримання еквівалентного терапевтичного або профілактичного ефекту. Взагалі пептидоміметики структурно схожі із зразковим поліпептидом (тобто поліпептидом, який володіє необхідною біохімічною властивістю або фармакологічною активністю), таким як антитіло людини, але володіє одним або декількома

пептидними зв'язками, необов'язково заміщеними зв'язком, вибраним з групи, що складається з -CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>S-, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH=CH- (цис і транс), -COCH<sub>2</sub>-, -CH(OH)CH<sub>2</sub>- і -CH<sub>2</sub>SO-, способами, добре відомими в даній галузі. Для отримання більш стабільних пептидів можна також використати системну заміну однієї або декількох амінокислот консенсусної послідовності D-амінокислотою такого ж типу (наприклад, D-лізин замість L-лізину). Крім того, пов'язані пептиди, що містять консенсусну послідовність або практично ідентичну варіацію консенсусної послідовності, можна отримати способами, добре відомими в даній галузі [Rizo and Gierasch, Ann. Rev. Biochem. 61: 387 (1992)], включені сюди у вигляді посилання; наприклад, шляхом додання внутрішніх цистеїнових залишків, здатних утворювати міжмолекулярні дисульфідні містки, які циклізують даний пептид.

"Антитіло" відноситься до повного антитіла або до його антигензв'язувальної ділянки, які конкурують з інтактним антитілом за специфічне зв'язування. Дивіться, головним чином, Fundamental Immunology, Ch. 7 [Paul, W., ed., 2n ed. Raven Press], (включену у всій повноті для всіх цілей). Антигензв'язувальні ділянки можна отримати за допомогою методів рекомбінантної ДНК або шляхом ферментативного або хімічного розщеплення інтактних антитіл. Антигензв'язувальні ділянки включають в себе, зокрема, Fab, Fab1, F(ab')<sub>2</sub>, Fd, Fv, dAb і фрагменти, що визначають ділянку комплементарності (CDR), одноланцюгові антитіла (scFv), химерні антитіла, діатільця і поліпептиди, які містять щонайменше ділянку антитіла, яка достатня для придання специфічності зв'язування антигену з даним поліпептидом.

Від N-кінця до C-кінця варіабельні домени важкого і легкого ланцюга включають в себе ділянки FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 і FR4. Віднесення амінокислот до кожного з доменів здійснюють відповідно до визначень Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest [National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991)], або Chothia & Lesk, J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987); Chothia et al., Nature 342: 878-883 (1989)].

Тут антитіло, яке позначається числом, являє собою моноклональне антитіло, яке отримане з гібридами з тим же числом. Наприклад, моноклональне антитіло 3.1.1 отримують з гібридами 3.1.1.

Тут Fd-фрагмент означає фрагмент антитіла, який складається з доменів V<sub>H</sub> і C<sub>H</sub> 1; Fv-фрагмент складається з доменів V<sub>L</sub> і V<sub>H</sub> одноплечевого антитіла; і dAb-фрагмент [Ward et al., Nature 341: 544-546 (1989)], який складається з V<sub>H</sub>-домену.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу дане антитіло являє собою одноланцюгове антитіло (scFv), в якому домени V<sub>L</sub> і V<sub>H</sub> спарені за допомогою синтетичного лінкера з утворенням моновалентних молекул, що дозволяє їм утворювати одноланцюговий білок. [Bird et al., Science 242: 423-426 (1988) i Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883 (1988)]. В деяких варіантах здійснення даного винаходу дані антитіла являють собою діатільця, тобто являють собою бівалентні антитіла, в яких домени V<sub>H</sub> і V<sub>L</sub> експресуються в одному поліпептидному ланцюгу, але що викорис-

товують лінкер, який дуже короткий, щоб дозволити утворити пару між цими двома доменами в цьому ж ланцюгу, тим самим змушуючи ці домени утворювати пару з комплементарними доменами іншого ланцюга і створюючи два антигензв'язувальних сайти [див., наприклад, Holliger P. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993) і Poljak R.J. et al., *Structure* 2: 1121-1123 (1994)]. В деяких варіантах здійснення даного винаходу одне або декілька CDR антитіла згідно з винаходом можуть бути ковалентно або нековалентно включені в молекулу з перетворенням її в імуоадгезин, який специфічно зв'язується з CD40. У таких варіантах здійснення даного винаходу CDR може вбудовуватися як ділянка більшого поліпептидного ланцюга, може ковалентно приєднуватися до іншого поліпептидного ланцюга або може вбудовуватися нековалентно.

У варіантах здійснення даного винаходу з одним або декількома зв'язуючими сайтами ці зв'язуючі сайти можуть бути ідентичні один одному, а можуть бути і різними.

Як такий, що використовується тут, термін "антитіло людини" має на увазі будь-яке антитіло, в якому всі варіабельні і константні доменні послідовності являють собою послідовності людини. Дані антитіла можна отримати різноманітними способами, як описано нижче.

Термін "химерне антитіло", що використовується тут, має на увазі антитіло, яке містить ділянки з двох або декількох різних антитіл. В одному з варіантів здійснення даного винаходу одним або декілька CDR отримують з антитіла людини до CD40. В іншому варіанті здійснення даного винаходу всі вказані CDR отримують з антитіла людини до CD40. В іншому варіанті здійснення даного винаходу вказані CDR з більш ніж одного антитіла людини до CD40 об'єднують в химерне антитіло. Наприклад, химерне антитіло може включати в себе CDR1 легкого ланцюга першого антитіла людини до CD40, CDR2 легкого ланцюга другого антитіла людини до CD40, а також CDR3 і CDR3 легкого ланцюга третього антитіла людини до CD40, а CDR з важкого ланцюга можна отримати з одного або декількох інших антитіл до CD40. Крім того, каркасні ділянки можна отримати з одних і тих же антитіл до CD40 або з одного або декількох різних антитіл людини.

"Активуюче антитіло" (що також тут іменується як "агоніст антитіла"), використання якого має на увазі антитіло, яке при доданні до клітини, тканини або організму, що експресує CD40, підвищує одну або декілька активностей CD40 щонайменше приблизно на 20%. У деяких варіантах здійснення даного винаходу дане антитіло активує CD40-активність щонайменше на 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%. У деяких варіантах здійснення даного винаходу активуюче антитіло додають в присутності CD40L. У деяких варіантах здійснення даного винаходу активність активуючого антитіла вимірюють з використанням аналізу підвищуючої регуляції молекулярної поверхні клітин цільної крові. Див. Приклад VII. В іншому варіанті здійснення даного винаходу активність активуючого антитіла вимірюють з використанням аналізу дендритних

клітин для вимірювання вивільнення IL-12. Див. Приклад VIII. В іншому варіанті здійснення даного винаходу активність активуючого антитіла вимірюють з використанням *in vivo*-моделі злоякісної пухлини. Див. Приклад X.

Фрагменти або аналоги антитіла або імуноглобулінових молекул можуть легко отримати рядові фахівці в даній галузі, відповідно до вказівок даного опису. Переважні аміно- і карбоксикінцеві фрагменти або аналоги, що зустрічаються поблизу кордонів функціональних доменів. Структурні і функціональні домени можна ідентифікувати шляхом порівняння нуклеотидної і/або амінокислотної послідовності з послідовністю, опублікованою або зареєстрованою в базах даних. Для ідентифікації мотивів послідовності або передбаченої білкової конформації доменів, які зустрічаються в білках відомої структури і/або функції, переважно використовують методи комп'ютерного порівняння. Способи ідентифікації білкових послідовностей, які упаковані у відому трьохмірну структуру, відомі. [Див. Bowie et al., *Science* 253: 164 (1991)].

Термін "поверхневий плазмонний резонанс", що використовується тут, відноситься до оптичного феномена, який дозволяє аналізувати в реальному часі біоспецифічні взаємодії шляхом детектування змін концентрації білка в біосенсорній матриці, наприклад, з використанням системи BIAcore (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.). Подальший опис [див. Jonsson U. et al., *Ann. Biol. Clin.* 51: 19-26 (1993); Jonsson U. et al., *Biotechniques* 11: 620-627 (1991); Jonsson B. et al., *J. Mol. Recognit.* 8: 125-131 (1995); і Jonsson B. et al., *Anal. Biochem.* 198: 268-277 (1991)].

Термін "KD" відноситься до константи дисоціації конкретної взаємодії антиген-антитіло.

Термін "епітоп" включає в себе будь-яку білкову детермінанту, здатну специфічно зв'язуватися з імуноглобуліном або Т-клітинним рецептором. Епітопні детермінанти звичайно складаються з хімічно активних згрупованих на поверхні молекул, таких як амінокислоти або цукрові бічні ланцюжки, і звичайно володіють специфічними тривимірними структурними характеристиками, а також певними значеннями заряду. Вважається, що антитіло специфічно зв'язує антиген при константі дисоціації <1мкМ, переважно <100нМ і найбільш переважно <10нМ.

Двадцять стандартних амінокислот, що використовуються тут, і їх аббревіатури відповідають загальноприйнятому використанню. Див. *Immunology - A Synthesis* [2nd Edition, E.S. Golub and D.R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991)], яка включена тут шляхом посилання.

Термін "полінуклеотид", що приводиться тут, має на увазі полімерну форму нуклеотидів, що складається щонайменше з 10 основ в довжину, будь-яких рибонуклеотидів або дезоксинуклеотидів, або модифіковану форму, що складається з нуклеотидів будь-якого типу. Даний термін включає в себе одноланцюгові і дволанцюгові форми.

Термін "виділений полінуклеотид", що використовується тут, має на увазі полінуклеотид геномного, кДНК-го, або синтетичного походження або їх

деяку комбінацію, який внаслідок того, що він є "виділеним полінуклеотидом" (1), не зв'язується з всіма або з частиною полінуклеотидів, з якими "виділений полінуклеотид" виявляється в природі, (2) приєднується шляхом зшивки до полінуклеотиду, з яким в природі він не зв'язується, або (3) не зустрічається в природі у вигляді частини більшої послідовності.

Термін "олігонуклеотид", що використовується тут, включає в себе природні і модифіковані нуклеотиди, сполучені разом з допомогою олігонуклеотидних зв'язків, що зустрічаються, або не зустрічаються в природі. Олігонуклеотиди являють собою полінуклеотидну підгрупу, як правило, довжиною в 200 основ або менше. Переважно олігонуклеотиди містять 10-60 основ і найбільш переважно -12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, або 20-40 основ. Олігонуклеотиди, як правило, є одностанцюговими, наприклад, праймери і зонди; хоч олігонуклеотиди можуть бути і двостанцюговими, наприклад, для використання в конструюванні генного мутанта. Олігонуклеотиди згідно з винаходом можуть являти собою або смислові, або антисмислові олігонуклеотиди.

Термін "олігонуклеотиди", що природно зустрічаються, що використовується тут, включають в себе дезоксирибонуклеотиди і рибонуклеотиди. Термін "модифіковані нуклеотиди", що використовується тут, включає в себе нуклеотиди з модифікованими або заміщеними цукровими групами і т.п. термін "олігонуклеотидні зв'язки", що приводиться тут, включає в себе олігонуклеотидні зв'язки, такі як тіофосфатний, дитіофосфатний, фосфоселеноатний, фосфодиселеноатний, фосфоанілотіоатний, фосфоаніладатний, фосфоамідатний і тому подібне. [Див., наприклад, LaPlanche et al., *Nucl. Acids Res.* 14: 9081 (1986); Stec et al., *J. Am. Chem. Soc.* 106: 6077 (1984); Stein et al., *Nucl. Acids Res.* 16: 3209 (1988); Zon et al., *Anti-Cancer Drug Design* 6: 539 (1991); Zon et al., *Oligonucleotides and Analogous: A Practical Approach*, pp.87-108 (F.Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991)); Патент США №5151510; Uhlmann and Peyman, *Chemical Reviews* 90: 543 (1990)], розкриття яких включене тим самим шляхом посилання. При необхідності, олігонуклеотид може включати мітку для детектування.

Послідовності, "приєднані шляхом зшивки", включають в себе і експресуючі контрольні послідовності, які стикаються з представляючим інтерес геном, і експресуючі контрольні послідовності для контролю за цікавлячим геном і які діють в трансположенні або на відстані. Термін "експресуюча контрольна послідовність", що використовується тут, має на увазі полінуклеотидні послідовності, які необхідні для впливу на експресію і процесинг кодуєчих послідовностей, з якими вони ліговані. Експресуючі контрольні послідовності включають в себе відповідні послідовності ініціації транскрипції, термінації, промотору і енхансеру послідовності; ефективні сигнали процесинга РНК, такі як сигнали сплайсинга і поліаденілювання; послідовності, які стабілізують цитоплазматичну мРНК; послідовності, які підвищують ефективність трансляції

(тобто консенсусну Козак-послідовність); послідовності, які підвищують стабільність білка; і, за необхідності, послідовності, які підвищують секрецію білка. Природа таких контрольних послідовностей різна і залежить від організму хазяїна; у прокариот такі контрольні послідовності, як правило, містять промотор, сайт зв'язування рибосом, і послідовність термінації транскрипції; в еукариот, як правило, такі контрольні послідовності включають в себе промотори і послідовність термінації транскрипції. Термін "контрольні послідовності" має на увазі включення, як мінімум, всіх компонентів, присутність яких суттєва для експресії і процесинга, і може також включати в себе додаткові компоненти, присутність яких створює перевагу, наприклад, лідерні послідовності і послідовності партнерів злиття.

Термін "вектор", що використовується тут, має на увазі молекулу нуклеїнової кислоти, здатну перенести іншу нуклеїнову кислоту, до якої вона прикріплена. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор являє собою плазмід, тобто кільцеву двостанцюгову ДНК-петлю, в яку можуть бути ліговані додаткові ДНК-сегменти. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор являє собою вірусний вектор, у вірусний геном якого можуть бути додатково ліговані ДНК-сегменти. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектори можуть автономно реплікуватися в клітині-хазяїні, в яку вони інтродуковані (наприклад, бактерійні вектори, що володіють бактерійним ориджином реплікації або епісомні вектори ссавців). В інших варіантах здійснення даного винаходу вектори (наприклад, неепісомні вектори ссавців) можуть інтегруватися в геном клітини-хазяїна після впровадження в господарську клітину і, таким чином, реплікуватися одночасно з господарським геномом. Разом з тим, деякі вектори здатні управляти експресією генів, до яких вони приєднані шляхом зшивки. Такі вектори іменують тут "рекомбінантні експресуючі вектори" (або просто "експресуючі вектори").

Термін "рекомбінантна клітина-хазяїн", що використовується тут, (або просто "клітина-хазяїн") має на увазі клітину, в яку впроваджений рекомбінантний експресуючий вектор. Потрібно мати на увазі, що "рекомбінантна клітина-хазяїн" і "клітина-хазяїн" має на увазі не тільки окрему клітину пацієнта, але також і потомство такої клітини. Оскільки через яку-небудь мутацію або вплив навколишнього середовища в подальших поколіннях можуть відбуватися деякі модифікації, то таке потомство насправді не може бути ідентично батьківській клітині, але все ж його включають в рамки терміну "клітина-хазяїн", що використовується тут.

Термін "селективно гібридизується", що приводиться тут, має на увазі виявлення і специфічне зв'язування. Полінуклеотиди, олігонуклеотиди і їх фрагменти відповідно до даного винаходу селективно гібридизуються з ланцюгами нуклеїнової кислоти в умовах гібридизації і відмивання, які мінімізують істотний рівень детектованого зв'язування з неспецифічними нуклеїновими кислотами. "Дуже жорсткі" або "виключно жорсткі" умови можна використати для здійснення умов селективної



гібридизації, які відомі в даній галузі і розглядаються тут. Один з прикладів "дуже жорстких" або "виключно жорстких" умов являє собою інкубацію полінуклеотиду з іншим полінуклеотидом, де один з полінуклеотидів може бути прикріплений до твердої поверхні, такої як мембрана, в гібридизаційному буфері, що складається з 6X SSPE або SSC, 50% формаміду, 5X розчину Денхардта, 0,5% SDS, 100мкг/мл денатурованої, фрагментованої ДНК сперми лосося, при температурі гібридизації 42°C протягом 12-16 годин, з подальшим двократним відмиванням при 55°C з використанням буфера для відмивання, що складається з IX SSC, 0,5% SDS. [Див. також Sambrook et al., вище, pp.9.50-9.55].

Термін "процентна ідентичність послідовності" застосовно до послідовностей нуклеїнової кислоти має на увазі нуклеотидні залишки в двох послідовностях, які однакові при вирівнюванні на максимальну відповідність. Довжина ідентичної послідовності, що порівнюється, може бути подовжена щонайменше майже на дев'ять нуклеотидів, як правило, щонайменше майже на 18 нуклеотидів, в більшості випадків, як правило, щонайменше майже на 24 нуклеотиди, звичайно щонайменше майже на 28 нуклеотидів, частіше щонайменше майже на 32 нуклеотиди, і переважно щонайменше майже на 36, 48 або більше нуклеотидів. Існує ряд різних алгоритмів, відомих в даній галузі, які можна використати для вимірювання ідентичності нуклеотидної послідовності. Наприклад, полінуклеотидні послідовності можна порівнювати з використанням FASTA, Gap або Bestfit, які являють собою програми в Wisconsin Package Version 10.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin. FASTA, яка включає в себе, наприклад, програми FASTA2 і FASTA3, здійснює вирівнювання і визначає процентну ідентичність ділянок з найкращим перекриттям між послідовностями що запитується, і що досліджується [Pearson, Methods Enzymol. 183: 63-98 (1990); Pearson, Methods Mol. Biol. 132: 185-219 (2000); Pearson, Methods Enzymol. 266: 227-258 (1996); Pearson, J. Mol. Biol. 276: 71-84 (1998)]; включені тут шляхом посилання). Якщо не обумовлено інакше, використовують параметри за умовчанням для конкретної програми або алгоритму. Наприклад, процентну ідентичність між послідовностями нуклеїнових кислот можна визначити з використанням FASTA і її параметрами за умовчанням (розмір слова з 6 і NOPAM-фактор для матриці оцінок) або з використанням GAP і його параметрів за умовчанням, які розроблені для GCG Version 6.1, включені тут шляхом посилання.

Посилання на нуклеотидну послідовність включає в себе комплементарну їй послідовність, якщо не обумовлено інакше. Таким чином, потрібно мати на увазі, що посилання на нуклеїнову кислоту, яка володіє конкретною послідовністю, відноситься також до комплементарного їй ланцюга і її комплементарної послідовності.

У молекулярній біології дослідники використовують взаємозамінні терміни "процентна ідентичність послідовності", "процентна схожість послідовності" і "процентна гомологія послідовності". У

даній заявці ці терміни мають те ж значення і відносяться тільки до послідовностей нуклеїнових кислот.

Термін "істотно схожий" або "істотно схожа послідовність" відносно нуклеїнової кислоти або її фрагмента означає, що оптимальне вирівнювання, при відповідному числі нуклеотидних вставок або делецій, з іншою нуклеїновою кислотою (або з її комплементарним ланцюгом), означає ідентичність нуклеотидної послідовності щонайменше на 85%, переважно щонайменше майже на 90%, і найбільш переважно, щонайменше майже на 95%, 96%, 97%, 98% або 99% нуклеотидних основ, і це вимірюється за допомогою добре відомого алгоритму ідентичності послідовностей, такого як FASTA, BLAST або Gap, що розглядається вище.

Застосовно до поліпептидів термін "істотно ідентичний" має на увазі, що дві пептидні послідовності при оптимальному вирівнюванні за допомогою таких програм як GAP або BESTFIT, що використовують за умовчанням зважені пропуски, володіють щонайменше 70-, 75- або 80-процентною ідентичністю послідовностей, переважно щонайменше 90- або 95-процентною ідентичністю послідовностей, і найбільш переважно, щонайменше 97-, 98- або 99-процентною ідентичністю послідовностей. Переважно інші неідентичні позиції відрізняються по консервативних амінокислотних замінах. "Консервативна амінокислотна заміна" являє собою заміну, в якій амінокислотний залишок замінюється іншим амінокислотним залишком, що володіє бічним ланцюгом у вигляді R-групи, з аналогічними хімічними характеристиками (наприклад, зарядом або гідрофобністю). Загалом, консервативна амінокислотна заміна не повинна істотно змінювати функціональні характеристики білка. У випадку, коли дві або більше амінокислотні послідовності відрізняються одна від одної консервативними амінокислотними замінами, процентна ідентичність послідовності або ступінь схожості може бути підвищена введенням поправок на консервативну природу даної заміни. Способи такого підвищення добре відомі фахівцям в даній галузі. [Див., наприклад, Pearson, methods Mol. Biol. 243: 307-31 (1994)]. Приклади амінокислотних груп, які володіють бічними ланцюгами зі схожими хімічними характеристиками, включають в себе 1) аліфатичні бічні ланцюги: гліцин, аланін, валін, лейцин і ізолейцин; 2) аліфатичні з гідроксильною групою бічні ланцюги: серин і треонін; 3) амідовмісні бічні ланцюги: аспарагін і глутамін; 4) ароматичні бічні ланцюги: фенілаланін, тирозин і триптофан; 5) основні бічні ланцюги: лізин, аргінін і гістидин; 6) кислотні бічні ланцюги: аспарагінова і глутамінова кислота; і 7) сірковмісні бічні ланцюги: цистеїн і метіонін. Переважні амінокислотні групи з консервативними замінами являють собою валін-лейцин-ізолейцин, фенілаланін-тирозин, лізин-аргінін, аланін-валін, глутамін-аспарагінова кислота і аспарагін-глутамін.

Як альтернатива, консервативна заміна являє собою будь-яку зміну, що володіє позитивною величиною в логарифмічній матриці правдоподібності PAM250, розкритий у [Gonnet et al., Science 256: 1443-45 (1992)], включеної тут шляхом посилання.

"Помірно консервативна" заміна являє собою будь-яку зміну, що володіє ненегативною величиною в логарифмічній матриці правдоподібності PAM250.

Схожість послідовностей поліпептидів, яку також іменують ідентичністю послідовностей, як правило, вимірюють з використанням програм аналізу послідовності. Білкова аналітична програма зіставляє схожі послідовності з використанням вимірювання схожості, що вирівнюються по різних замінах, делеціях і інших модифікаціях, в тому числі і консервативним амінокислотним замінам. Наприклад, GCG містить програми, такі як "Gap" і "Bestfit", які можна використати з параметрами за умовчанням для визначення гомології послідовностей або ідентичності послідовностей між близько родинними поліпептидами, такими як гомологічні поліпептиди різних видів організмів або між білком дикого типу і його мутантом. Див., наприклад, GCG Version 6.1. Поліпептидні послідовності можна також порівнювати з допомогою FASTA, використовуючи параметри за умовчанням або параметри, що рекомендуються, програма для GCG Version 6.1. FASTA (наприклад, FASTA2 і FASTA3) забезпечує вирівнювання і процентну ідентичність послідовності в ділянках найкращого перекриття між послідовностями, що запитується і, що досліджується [Pearson, Methods Enzymol. 183: 63-98 (1990); Pearson, Methods Mol. Biol. 132: 185-219 (2000)]. Інший переважний алгоритм для порівняння послідовностей згідно з винаходом з базою даних, що містить велике число послідовностей з різних організмів, являє собою комп'ютерна програма BLAST, зокрема, blastp або blastn, з використанням параметрів за умовчанням. [Див., наприклад, Altschul et al., J. Mol. Biol. 215: 403-410 (1990); Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25: 3389-402 (1997)]; включені тут шляхом посилання.

Довжини поліпептидних послідовностей, що порівнюються на предмет гомології, складають, як правило, щонайменше близько 16 амінокислотних залишків, звичайно щонайменше близько 20 залишків, частіше звичайно щонайменше близько 24 залишків, звичайно, як правило, щонайменше близько 28 залишків, і переважно понад близько 35 залишків. Якщо пошукова база даних містить послідовності великого числа різних організмів, вона є переважною для порівняння амінокислотних послідовностей.

Терміни "мітка" або "мічений", що використовуються тут, відносяться до впровадження іншої молекули в дане антитіло. В одному з варіантів здійснення даного винаходу мітка являє собою детектований маркер, наприклад, включену в амінокислоту радіоактивну мітку або приєднану до поліпептиду біотинільовану складову, яка може виявлятися з допомогою авідину, що маркується (наприклад, стрептавідину, який містить флуоресцентний маркер або ферментативну активність, яку можна детектувати оптичним або колориметричним способами). В іншому варіанті здійснення даного винаходу мітка або маркер можуть бути терапевтичними, наприклад, лікарським кон'югатом або токсином. У даній галузі відомі і можуть використовуватися різні способи мічення поліпеп-

тидів і глікопротеїнів. Приклади міток для поліпептидів включають в себе, не обмежуючись ними, радіоізотоп або радіонукліди (наприклад,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ), флуоресцентні мітки (наприклад, FITC, родамін, фосфатні лантаноїди), ферментні мітки (наприклад, пероксидаза хрому,  $\beta$ -галактозидаза, люцифераза, лужна фосфатаза), хемілюмінесцентні маркери, біотинільні групи, попередньо визначені поліпептидні епітопи, пізнавані повторним репортером (наприклад, лейцинова застібка парних послідовностей, зв'язуючі сайти повторних антитіл, металозв'язуючі домени, епітопні мітки), магнітні агенти, такі як хелатні сполуки гадолінію, токсини, такі як коклюшний токсин, таксол, цитохалазин В, граміцидин D, етидйбромід, еметин, мітоміцин, етопозид, тенопозид, вінкристин, вінбластин, колхіцин, доксорубіцин, даунорубіцин, дигідроксіантрацидін, мітоксантрон, мітраміцин, актиноміцин D, 1-дегідротестостерон, глюкокортикоїди, прокаїн, тетракаїн, лідокаїн, пропранолол і пуроміцин, а також його аналоги і гомологи. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мітки приєднують з допомогою "ніжки" різної довжини для зменшення можливого просторового ускладнення.

Термін пацієнт включає людину і тварин.

У рамках даного опису і формули винаходу слово "включати", або його варіанти, такі як "включає" або "що включає" має на увазі включення встановленого цілого числа або групи чисел, а не виключення будь-якого іншого цілого числа або групи цілих чисел.

Антитіла людини до CD40 і їх характеристика

Антитіла людини допомагають уникнути деяких проблем, пов'язаних з асоціацією антитіл, якими володіють варіабельна і/або константна ділянки антитіл тварин, що не є людиною (наприклад, гризунів). Такі ускладнення включають в себе швидкий кліренс антитіл або імунну реакцію проти цього антитіла. Тому в одному з варіантів здійснення даного винаходу створені гуманізовані антитіла до CD40. В іншому варіанті здійснення даного винаходу отримані антитіла людини до CD40. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіла людини до CD40 отримують шляхом імунізації гризуна, геном якого включає в себе гени імуноглобуліну людини, з тим, щоб даний гризун продукував антитіла людини. Передбачається, що антитіла, людини до CD40 мінімізують імуногенність і алергічні реакції, властиві антитілам, що не належать людині, або моноклональним антитілам, що не виробляються людиною (монАТ), і, отже, підвищують ефективність і безпеку антитіл, що вводяться. Використання повністю людських антитіл можна розглядати приблизно для створення істотної переваги при лікуванні хронічних і зворотних захворювань людини, таких як запалення і злоякісна пухлина, які можуть вимагати повторного введення антитіл.

У даному винаході створено одинадцять активуючих моноклональних антитіл людини до CD40 (монАТ) і виробляючих їх гібридомних клітинних ліній. У Таблиці А приведений список ідентифікаторів послідовностей (SEQ ID NO: ) нуклеїнових кислот, що кодують повнорозмірні важкі і легкі ла-

нцюги (включаючи лідерну послідовність), відповідні повнорозмірні виведені амінокислотні послідовності, а також нуклеотидна і виведена на її основі

амінокислотна послідовність варіабельних ділянок важкого і легкого ланцюга.

Таблиця А

## Антитіла людини до CD40

Ідентифікатор послідовності (SEQ ID NO: )								
монАТ	Варіабельна ділянка				Повна довжина			
	Важкий		Легкий		Важкий		Легкий	
	ДНК	Білок	ДНК	Білок	ДНК	Білок	ДНК	Білок
3.1.1	1	2	3	4	5	6	7	8
7.1.2	9	10	11	12	13	14	15	16
10.8.3	17	18	19	20	21	22	23	24
15.1.1	25	26	27	28	29	30	31	32
21.2.1	33	34	35	36	37	38	39	40
21.4.1	41	42	43	44	45	46	47	48
22.1.1	49	50	51	52	53	54	55	56
23.5.1	57	58	59	60	61	62	63	64
23.28.1	65	66	67	68	69	70	71	72
23.29.1	73	74	75	76	77	78	79	80
24.2.1	81	82	83	84	85	86	87	88

Крім того, в даному винаході передбачені монАТ 23.25.1 людини до CD40 і лінія гібридомних клітин, яка їх продукує.

Крім того, в даному винаході передбачені варіанти важкого і/або легкого ланцюга деяких перелічених вище монАТ людини до CD40, що містять одну або декілька амінокислотних замін. В даному винаході створені два варіанти монАТ 3.1.1 важких ланцюгів. В одному з них 78 залишок аланіну замінений на треонін. В іншому 78 залишок аланіну замінений на треонін, а 88 і 97 залишки валіну замінені аланіном. У даному винаході створений також варіант монАТ 3.1.1 легкого ланцюга, в якому 4 залишок лейцину і 83 залишок лейцину замінені, відповідно, на метіонін і валін. Поєднання виміряного важкого або легкого ланцюга з легким або важким ланцюгом дикого типу позначається, відповідно, як мутантний ланцюг. Таким чином, антитіло, що містить легкий ланцюг дикого типу і важкий ланцюг, що включає зміну аланіну на треонін по залишку 78, позначене у вигляді 3.1.1 Н-А78Т. Однак в інших варіантах здійснення даного винаходу включені антитіла, що містять будь-яке поєднання зміненого важкого ланцюга і зміненого легкого ланцюга з 3.1.1.

Далі, в даному винаході створений варіант монАТ 22.1.1 важкого ланцюга, в якому 109 залишок цистеїну замінений на аланін. Моноклональне антитіло, що включає змінений важкий ланцюг і легкий ланцюг 22.1.1, позначене монАТ 22.1.1 Н-С109А. Ще в даному винаході створені два варіанти важкого ланцюга і варіант легкого ланцюга монАТ 23.28.1. В одному з варіантів важкого ланцюга 16 залишок аспарагінової кислоти замінений на глутамінову кислоту. монАТ, що включає варіантний важкий ланцюг і легкий ланцюг 23.28.1, позначене 23.28.1 Н-D16Е. Даний винахід включає також 23.28.1-варіант легкого ланцюга, в якому 92 залишок цистеїну замінений на аланін. монАТ, що включає 23.28.1-важкий ланцюг і варіант легкого

ланцюга, позначене 23.28.1 L C92A. У даному винаході створені також монАТ, що включають будь-який з варіантів важкого ланцюга 23.28.1 з варіантом легкого ланцюга 23.28.1.

Легкий ланцюг, що продукується гібридомою 23.29.1, містить мутацію в константній ділянці по залишку 174. Легкий ланцюг, що продукується даною гібридомою, в цьому положенні несе аргінін замість канонічного лізину. Відповідно до цього, в даному винаході створений також легкий ланцюг 23.29.1 з канонічним лізином по залишку 174 і монАТ, позначеному 23.29.1 L-R174K, що містить важкий ланцюг 23.29.1 і змінений легкий ланцюг.

У переважному варіанті здійснення даного винаходу антитіло до CD40 являє собою 3.1.1, 3.1.1 Н-А78Т, 3.1.1 Н-А78Т-V88А-V97А, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 Н-С109А, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 Н-D16Е, 23.28.1 L-C92А, 23.29.1, 23.29.1 L-R174K і 24.2.1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 містить легкий ланцюг, що включає в себе амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64, 72, 80, 88, 94, 100 або 192, або її варіабельну ділянку, або ж кодується послідовністю нуклеїнової кислоти, вибраною з SEQ ID NO: 7, 15, 23, 31, 39, 47, 55, 63, 71, 79, 87, 93, 99 або 101. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до GD40 включає в себе легкий ланцюг, що містить щонайменше CDR2 одного з перерахованих антитіл, одну з ідентифікованих вище амінокислотних послідовностей (як показано на Фіг.1А-1С і 2А-2С), або, що кодується однією з ідентифікованих вище послідовностей нуклеїнової кислоти. В іншому варіанті здійснення даного винаходу даний легкий ланцюг додатково містить CDR1 і CDR3, незалежно вибрані з варіабельної ділянки легкого ланцюга, яка включає в себе не більше десяти амінокислот з амінокислотної послідовності, що кодується геном зародкової лінії V<sub>κ</sub> A3/A 19, L5 або A27, або

включає в себе CDR1 і CDR3, незалежно вибрані з CDR1 і CDR3 (1) антитіла, вибраного з 3.1.1, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1, 23.29.1 L-R174K або 24.2.1; (2) амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94, 100 або 102 або (3) послідовністю нуклеїнової кислоти, що кодується SEQ ID NO: 3, 11, 19, 27, 35, 43, 51, 59, 67, 75, 83, 93, 99 або 101.

В іншому переважному варіанті здійснення даного винаходу антитіло до CD40 включає в себе важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 6, 14, 22, 30, 38, 46, 54, 62, 70, 78 або 86, або її варіабельну ділянку, або, що кодується послідовністю нуклеїнової кислоти, вибраною з SEQ ID NO: 5, 13, 21, 29, 37, 45, 53, 61, 69, 77 або 85. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло проти CD40 включає в себе важкий ланцюг, що містить щонайменше CDR3 одного з перерахованих антитіл, одну з вищезгаданих амінокислотних послідовностей (як показано на Фіг.1A-1C і 2A-2C), або, що кодується однією з вищезгаданих послідовностей нуклеїнової кислоти. В іншому варіанті здійснення даного винаходу даний важкий ланцюг додатково включає CDR1 і CDR2, незалежно вибрані з варіабельної ділянки важкого ланцюга, яка включає не більше вісімнадцяти амінокислот з амінокислотної послідовності, що кодується геном зародкової лінії V<sub>H</sub>3-30+, 4-59, 1-02, 4.35 або 3-30.3, або включає CDR1 і CDR2, незалежно вибрані з CDR1 або CDR2 (1) антитіла, вибраного з 3.1.1, 3.1.1 H-A78T, 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.29.1 і 24.2.1; (2) амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 або 98, або (3) послідовністю нуклеїнової кислоти, що кодується SEQ ID NO: 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 91, 95 або 97. В іншому варіанті здійснення даного винаходу антитіло до CD40 включає в себе важкий ланцюг і легкий ланцюг, як вказано вище.

Антитіло 3.1.1 H-A78T, що використовується тут, ідентичне антитілу 3.1.1 за тим винятком, що залишок 78 важкого ланцюга являє собою треонін замість аланіну. Аналогічно, в антитілі 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A залишок 78 замінений на А, а залишки 88 і 97 замінені в даному важкому ланцюгу з валіну на аланін. Антитіло 3.1.1 L-L4M-L83V ідентичне антитілу 3.1.1, з тим винятком, що залишок 4 являє собою метіонін замість лейцину, а залишок 83 являє собою в даному легкому ланцюгу валін замість лейцину. Антитіло 22.1.1 H-C109A ідентичне антитілу 22.1.1, за тим винятком, що залишок 109 даного важкого ланцюга замінений з цистеїну на аланін. Антитіла 23.28.1 H-D16E і 23.28.1 L-C92A ідентичні антитілу 23.28.1, за тим винятком, що залишок 16 даного важкого ланцюга замінений з аспартату на глутамат, а залишок 92 даного легкого ланцюга замінений, відповідно, з цистеїну на аланін. Антитіло 23.29.1 L-R174K ідентичне антитілу 23.29.1, за тим винятком, що залишок 174 даного легкого ланцюга замінений з аргі-

ніну на лізин.

Класи і підкласи антитіл до CD40

Класи і підкласи антитіл до CD40 можна визначити будь-яким способом, відомим в даній галузі. Взагалі клас і підклас будь-якого антитіла можна визначити з використанням антитіл, які специфічні для конкретного класу і підкласу будь-якого антитіла. Такі антитіла комерційно доступні. Клас і підклас можна визначити з допомогою ІФА або Вестерн-блота, також як і іншими методами. Як альтернатива, клас і підклас можна визначити шляхом секвенування всіх або частини константних доменів даного важкого і/або легкого ланцюгів певних антитіл, порівнюючи їх амінокислотні послідовності з відомими амінокислотними послідовностями різних класів і підкласів імунoglobulinів і визначаючи клас і підклас антитіл.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 являє собою моноклональне антитіло. Антитіло до CD40 може являти собою молекулу IgG, IgM, IgE, IgA або IgD. У переважному варіанті здійснення даного винаходу антитіло до CD40 являє собою IgG і відповідає підкласу IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4. В іншому переважному варіанті здійснення даного винаходу антитіла до CD40 представлені підкласом IgG2.

Видова і молекулярна селективність

В іншому аспекті даного винаходу антитіла до CD40 демонструють і видову, і молекулярну селективність. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 зв'язується з CD40 приматів і людини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 зв'язується з CD40 людини, *synomolgus* або резус-мави. В інших варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 не зв'язується з CD40 миші, щура, собаки або кролика. Відповідно до вказівок даного опису, можна визначити видову селективність антитіла до CD40, застосовуючи способи, добре відомі в даній галузі. Наприклад, можна визначити видову селективність з використанням Вестерн-блота, FACS, ІФА або РІА. (Див., наприклад, Приклад IV.)

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 володіє селективністю у відношенні CD40, яка в 100 раз вище, ніж його селективність у відношенні RANK (рецепторний активатор ядерного фактора каппа-ланцюга В-клітин), 4-1BB (CD137), TNFRF-1 (Рецептор-1 Фактора Некрозу Пухлини) і TNFRF-2 (Рецептор-2 Фактора Некрозу Пухлини). У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 не виявляє якого-небудь істотного специфічного зв'язування з будь-яким іншим білком, відмінним від CD40. Можна визначити селективність антитіла до CD40 у відношенні CD40, використовуючи способи, добре відомі в даній галузі, відповідно до вказівок даного опису. Наприклад, можна визначити селективність, використовуючи Вестерн-блот, FACS, ІФА або РІА. (Див., наприклад, Приклад V.)

Ідентифікація CD40-епітопів, розпізнаваних антитілом до CD40

Далі, в даному винаході створене моноклональне антитіло людини до CD40, яке зв'язує CD40 і перехресно конкурує, і/або зв'язується, з тим же

епітопом і/або зв'язується з CD40 з тією ж  $K_D$ , що і антитіло людини до CD40, вибране з антитіл 3.1.1, 3.1.1 H-A78T, 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1, 23.29.1 L-R174K або 24.2.1; або антитіло людини до CD40, яке включає в себе варіабельну ділянку важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 або 98, або антитіло людини до CD40, яке включає в себе варіабельну ділянку легкого ланцюга, що має послідовність SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94, 100 або 102.

Уявляється можливим визначити, чи дійсно зв'язується антитіло з одним і тим же епітопом або перехресно конкурує за зв'язування з антитілом проти CD40, використовуючи будь-який спосіб, відомий в даній галузі. В одному з варіантів здійснення згідно з винаходом можна дозволити даному антитілу до CD40 даного винаходу зв'язати CD40 в умовах насичення, а потім виміряти здатність антитіла, що тестується, зв'язувати CD40. Якщо антитіло, що тестується, здатне зв'язувати CD40 одночасно з антитілом до CD40, тоді це антитіло, що тестується, зв'яжеться з іншим епітопом як антитіло до CD40. Однак якщо антитіло, що тестується, не здатне одночасно зв'язуватися з CD40, тоді це антитіло, що тестується, зв'яжеться з тим же самим епітопом, що перекривається епітопом, або епітопом, який знаходиться в безпосередній близькості до епітопу, пов'язаному антитілом людини до CD40. Даний експеримент можна здійснити з використанням ІФА, РІА, FACS або поверхневого плазменного резонансу. (Див., наприклад, Приклад VI). У переважному варіанті здійснення даного винаходу даний експеримент здійснюють з використанням поверхневого плазменного резонансу. У більш переважному варіанті здійснення даного винаходу використовують BIAcore.

Зв'язування антитіл проти CD40 з CD40 по спорідненості

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло проти CD40 зв'язується з CD40 з високою спорідненістю. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло проти CD40 зв'язується з CD40 з  $K_D$   $2 \times 10^{-8}$  М або з  $K_D$  меншого значення. В інших переважних варіантах здійснення даного винаходу антитіло проти CD40 зв'язується з CD40 з  $K_D$   $2 \times 10^{-9}$ ,  $2 \times 10^{-10}$ ,  $4,0 \times 10^{-11}$  М або з  $K_D$  меншого значення. У найбільш переважному варіанті здійснення даного винаходу антитіло зв'язується з CD40 з  $K_D$   $2,5 \times 10^{-12}$  М або з  $K_D$  меншого значення. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло зв'язується з CD40 практично з тією ж  $K_D$ , що і антитіло, вибране з 3.1.1, 3.1.1 H-A78T, 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1, 23.29.1 L-R174K або 24.2.1. В іншому переважному варіанті здійснення даного винаходу антитіло зв'язується з CD40 практично з тією ж  $K_D$ , що і антитіло, яке включає в себе CDR2 легкого ланцюга, і/або CDR3 важкого ланцюга анти-

ла, вибраного з 3.1.1, 3.1.1 H-A78T, 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1, 23.29.1 L-R174K і 24.2.1. Ще в одному переважному варіанті здійснення даного винаходу антитіло зв'язується з CD40 практично з тією ж  $K_D$ , що і антитіло, яке включає в себе варіабельну ділянку важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 або 98, або яке включає в себе легкий ланцюг, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94, 100 або 102. В іншому переважному варіанті здійснення даного винаходу антитіло зв'язується з CD40 практично з тією ж  $K_D$ , що і антитіло, яке включає в себе CDR2 варіабельної ділянки легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94, 100 або 102, або CDR3 варіабельної ділянки важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 або 98.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу дане антитіло проти CD40 має низьку швидкість дисоціації. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло проти CD40 має  $K_{off}$   $2,0 \times 10^{-4}$  або менше. У деяких варіантах здійснення даного винаходу  $K_{off}$  становить  $2 \times 10^{-7}$  або менше. У деяких варіантах здійснення даного винаходу  $K_{off}$  практично така ж, що і для описаного тут антитіла, включаючи антитіло, вибране з 3.1.1, 3.1.1 H-A78T, 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1, 23.29.1 L-R174K і 24.2.1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло зв'язується з CD40 практично з таким же значенням  $K_{off}$ , що і у антитіла, яке включає в себе CDR3 важкого ланцюга або CDR2 легкого ланцюга антитіла, вибраного з 3.1.1, 3.1.1 H-A78T, 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1, 23.29.1 L-R174K і 24.2.1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло зв'язується з CD40 практично з таким же значенням  $K_{off}$ , що і у антитіла, яке включає в себе варіабельну ділянку важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 або 98, або яка включає в себе варіабельну ділянку легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94, 100 або 102. В іншому переважному варіанті здійснення даного винаходу антитіло зв'язується з CD40 практично з такою ж  $K_{off}$ , що і у антитіла, яке включає в себе CDR2 варіабельної ділянки легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94, 100 або 102, або CDR3 варіабельної ділянки важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6, 14, 22, 30, 38, 46, 54, 62, 70, 78, 86, 90, 92, 96 або 98.

Зв'язування по спорідненості і швидкість дисо-

ціації антитіла проти CD40 з CD40 можна визначити будь-яким способом, відомим в даній галузі. Зв'язування по спорідненості можна виміряти конкурентними ІФА, РІА або: поверхневим плазменним резонансом, таким як ВІАcore. Швидкість дисоціації можна також виміряти за допомогою поверхневого плазменного резонансу. Переважно, зв'язування по спорідненості і швидкість дисоціації вимірюють поверхневим плазменним резонансом. Більш переважно, зв'язування по спорідненості і швидкість дисоціації вимірюють з використанням ВІАcore™. Див., наприклад, Приклад XIV.

Використання генів легкого і важкого ланцюга

Антитіло до CD40 згідно з винаходом може включати в себе легкий каппа- або лямбда-ланцюг людини або амінокислотну послідовність, отриману з них. У деяких варіантах здійснення даного винаходу, що включають легкий каппа-ланцюг, варіабельний домен (VL) легкого ланцюга частково кодується геном людини A3/A 19 (DPK-15), L5 (DP5) або A27 (DPK-22)V<sub>κ</sub>.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу VL антитіла до CD40 містить одну або декілька амінокислотних замін в порівнянні з амінокислотною послідовністю клітин зародкової лінії. У деяких варіантах здійснення даного винаходу VL антитіла до CD40 містить 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10 амінокислотних замін в порівнянні з амінокислотною послідовністю клітин зародкової лінії. У деяких варіантах здійснення даного винаходу одна або декілька з цих замін клітин зародкової лінії знаходяться в CDR-ділянках легкого ланцюга. У деяких варіантах здійснення даного винаходу ці амінокислотні заміни, в порівнянні з клітинами зародкової лінії, знаходяться в одному або в декількох однакових положеннях, як і заміни в порівнянні з клітинами зародкової лінії для одного або декількох V<sub>L</sub> антитіл 3.1.1, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1, 23.29.1 L-R174K і 24.2.1. Наприклад, V<sub>L</sub> антитіла до CD40 може містити одну або декілька амінокислотних замін, в порівнянні з клітинами зародкової лінії, виявляються в антитілі 21.4.1, а інші амінокислотні заміни, в порівнянні з клітинами зародкової лінії, виявляються в антитілі 10.8.3, яке використовує той же V<sub>κ</sub>-ген, що і ген антитіла 21.4.1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу амінокислотні зміни відбуваються в одному або декількох одних і тих же положеннях, але викликає їх інша мутація, ніж в даному еталонному антитілі.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу амінокислотні зміни, в порівнянні із зародковою лінією, відбуваються в одному або декількох одних і тих же положеннях, що і в будь-якому з V<sub>L</sub> антитіл 3.1.1, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1, 23.29.1 L-R174K і 24.2.1, але дані зміни можуть відповідати консервативним амінокислотним замінам в цьому положенні(ях) відносно амінокислоти в еталонному антитілі. Наприклад, коли конкретне положення в одному з цих антитіл змінюється по відношенню до клітин зародкової лінії і представлене глутаматом, в цьому положенні можна консервативно замінити аспартат. Анало-

гічно, якщо амінокислотне заміщення в порівнянні із заміщенням клітин зародкової лінії представлене серином, в цьому положенні можна консервативно замінити треонін на серин. Консервативні амінокислотні заміни розглядаються вище.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу легкий ланцюг антитіла людини до CD40 включає в себе амінокислотну послідовність, яка являє собою ту ж амінокислотну послідовність, що і амінокислотна послідовність V<sub>L</sub> антитіла 3.1.1 (SEQ ID NO: 4), 3.1.1 L-L4M-L83V (SEQ ID NO: 94), 7.1.2 (SEQ ID NO: 12), 10.8.3 (SEQ ID NO: 20), 15.1.1 (SEQ ID NO: 28), 21.4.1 (SEQ ID NO: ), 21.2.1 (SEQ ID NO: 36), 21.4.1 (SEQ ID NO: 44), 22.1.1 (SEQ ID NO: 52), 23.5.1 (SEQ ID NO: 60), 23.28.1 (SEQ ID NO: 68), 23.28.1 L-C92A (SEQ ID NO: 100), 23.29.1 (SEQ ID NO: 76), 23.29.1 L-R174K (SEQ ID NO: 102) або 24.2.1 (SEQ ID NO: 84), або вказана амінокислотна послідовність має до 1, 2, 3, 4, 6, 8 або 10 консервативних амінокислотних замін і/або загалом до 3-х неконсервативних амінокислотних замін.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу легкий ланцюг антитіла людини до CD40 включає в себе щонайменше легкий ланцюг CDR2 і може також включати в себе ділянки CDR1 і CDR3 в послідовності клітин зародкової лінії, як описано тут. В іншому варіанті здійснення даного винаходу легкий ланцюг може включати CDR1 і CDR2 з антитіла, незалежно вибраного з 3.1.1, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1 і 24.2.1, або CDR-ділянки, кожний, що володіє менше 8, менше 6, менше 4 або менше 3 консервативних замін і/або загалом трьома або менше неконсервативними амінокислотними замінами. В інших варіантах здійснення даного винаходу легкий ланцюг вказаного антитіла до CD40 включає в себе щонайменше легкий ланцюг CDR2, і може також включати в себе CDR1- і CDR3-ділянки, кожна з яких незалежно вибрана з CDR1- і CDR3-ділянок антитіла, що володіє варіабельною ділянкою легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94 або 100, або, що кодується молекулою нуклеїнової кислоти, вибраною з SEQ ID NO: 3, 11, 19, 27, 35, 43, 51, 59, 67, 75, 83, 93 або 99.

Що стосується важкого ланцюга, то в деяких варіантах здійснення даного винаходу варіабельна ділянка амінокислотної послідовності важкого ланцюга частково кодується геном людини V<sub>H</sub> 3-30+, V<sub>H</sub> 4-59, V<sub>H</sub> 1-02, V<sub>H</sub> 4.35 або V<sub>H</sub> 3-30.3. У деяких варіантах здійснення даного винаходу V<sub>H</sub> антитіло до CD40 містить одну або декілька амінокислотних замін, делецій або вставок (добавок) в порівнянні з амінокислотною послідовністю клітин зародкової лінії. У деяких варіантах здійснення даного винаходу варіабельний домен важкого ланцюга містить 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 або 18 мутацій в порівнянні з амінокислотною послідовністю клітин зародкової лінії. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мутація(ії) являють собою неконсервативні заміни в порівнянні з амінокислотною послідовністю клітин

зародкової лінії. У деяких варіантах здійснення даного винаходу дані мутації знаходяться в CDR-ділянках даного важкого ланцюга. У деяких варіантах здійснення даного винаходу амінокислотні зміни вироблені в одному або декількох однакових положеннях в порівнянні з мутаціями в послідовності клітин зародкової лінії в будь-якій одній або в декількох  $V_H$  антитіл 3.1.1, 3.1.1 H-A78T, 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.29.1 і 24.2.1. В інших варіантах здійснення даного винаходу амінокислотні зміни відбуваються в одній або в декількох однакових позиціях, але містять іншу мутацію в порівнянні з еталонним антитілом.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу важкий ланцюг включає в себе амінокислотну послідовність варіабельного домену ( $VH$ ) антитіла 3.1.1 (SEQ ID NO: 2), 3.1.1 H-A78T (SEQ ID NO: 90), 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A (SEQ ID NO: 92), 7.1.2 (SEQ ID NO: 10), 10.8.3 (SEQ ID NO: 18), 15.1.1 (SEQ ID NO: 26), 21.2.1 (SEQ ID NO: 34), 21.4.1 (SEQ ID NO: 42), 22.1.1 (SEQ ID NO: 50), 22.1.1 H-C109A (SEQ ID NO: 96), 23.5.1 (SEQ ID NO: 58), 23.28.1 (SEQ ID NO: 66), 23.28.1 H-D16E (SEQ ID NO: 98), 23.29.1 (SEQ ID NO: 74) і 24.2.1 (SEQ ID NO: 82) або вказану амінокислотну послідовність, що володіє до 1, 2, 3, 4, 6, 8 або 10 консервативних амінокислотних замін і/або до 3 неконсервативних амінокислотних замін.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу важкий ланцюг включає в себе важкий ланцюг CDR1-, CDR2- і CDR3-ділянок антитіла 3.1.1, 3.1.1 H-A78T, 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.29.1 і 24.2.1 (як показано на Фіг.10-1H або 2D-2H), або вказаних CDR-ділянок, кожного, що володіє менше 8, менше 6, менше 4, або менше 3 консервативних амінокислотних замін або до трьох або менше неконсервативних амінокислотних замін.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу важкий ланцюг включає в себе CDR3 і може також включати CDR1- і CDR2-ділянки послідовності клітин зародкової лінії, як описано вище, або може включати CDR1 і CDR2 антитіла, кожне з яких незалежно вибрано з антитіла, що включає в себе важкий ланцюг антитіла, вибраного з 3.1.1, 3.1.1 H-A78T, 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.29.1 і 24.2.1. В іншому варіанті здійснення даного винаходу даний важкий ланцюг включає в себе CDR3 і може також містити CDR1- і CDR2-ділянки, кожна з яких незалежно вибрана з CDR1- і CDR2-ділянок варіабельної ділянки важкого ланцюга, що включає в себе амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 або 98 (як показано на Фіг.1D-1H або на Фіг.2D-2H) або, що кодується послідовністю нуклеїнової кислоти, вибраною з SEQ ID NO: 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 91, 95 або 97. В іншому варіанті здійснення даного винаходу антитіло включає в себе важкий ланцюг, як описано вище, і легкий ланцюг, як описано вище.

Один з видів амінокислотної заміни, яку можна зробити, являє собою заміну одного або декількох цистеїнів в даному антитілі, які можуть бути хімічно реакційно-здатними, на інший залишок, такий, яким, без обмеження, є аланін або серин. В одному з варіантів здійснення даного винаходу заміну цистеїну здійснюють в каркасній ділянці варіабельного домену або в константному домені антитіла. В іншому варіанті здійснення даного винаходу вказаний цистеїн знаходиться в неканонічній ділянці даного антитіла. Інший вид амінокислотної заміни, яку можна зробити, полягає в заміні будь-якого потенційного з протеолітичних сайтів в даному антитілі, зокрема, тих з них, які знаходяться в каркасній ділянці варіабельного домену, в константному домені антитіла або в неканонічній ділянці даного антитіла. Заміна цистеїнових залишків і видалення протеолітичних сайтів може знизити ризик будь-якої гетерогенності в даному антитільному продукті і, таким чином, збільшити його гомогенність. Інший вид амінокислотної заміни полягає в елімінації пари аспарагін-гліцин, які утворюють потенційні сайти дезамідування, шляхом зміни одного або обох залишків. Це переважно здійснювати в каркасних ділянках, константному домені або неканонічних ділянках антитіла.

Активация CD40 за допомогою антитіла до CD40

Інший аспект даного винаходу включає в себе антитіло до CD40, яке являє собою активуюче антитіло, тобто CD40-агоніст. Активуюче антитіло посилює або замінює дію CD40L відносно CD40. У деяких варіантах здійснення даного винаходу активуюче антитіло являє собою, по суті, імітатор CD40L, і конкурує з CD40L за зв'язування з CD40. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло не конкурує з CD40L за зв'язування з CD40, але посилює ефект зв'язування CD40L з CD40. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 активує CD40 в присутності або за відсутності CD40L. Інгібування пухлинного росту *in vivo* антитілами до CD40

Відповідно до деяких варіантів здійснення даного винаходу, в даному винаході передбачене антитіло до CD40, яке інгібує проліферацію пухлинних клітин *in vitro* або росту пухлини *in vivo*.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу дане антитіло придушує ріст пухлини щонайменше на 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%. У деяких варіантах здійснення даного винаходу дане антитіло придушує ріст пухлини на 75%. В одному з варіантів здійснення даного винаходу інгібування росту пухлини детектується через 14 днів після початку її обробки антитілом. В інших варіантах здійснення даного винаходу інгібування росту пухлини детектується через 7 днів після початку її обробки антитілом. У деяких варіантах здійснення даного винаходу тварині вводять інший протипухлинний агент разом з антитілом до CD40. У деяких варіантах здійснення даного винаходу протипухлинний агент додатково інгібує ріст пухлини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу протипухлинний агент являє собою адриаміцин або таксол. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спільне введення протипухлинного агента і

антитіла до CD40 інгібує ріст пухлини щонайменше на 50% через 22-24 дні після початку обробки, в порівнянні із ростом пухлини у необробленої тварини.

Індукція апоптозу антитілами до CD40

Інша мета даного винаходу - створити антитіло до CD40, яке індукує клітинну смерть в CD40-позитивних клітинах. У деяких варіантах здійснення даного винаходу дане антитіло викликає апоптоз CD40-позитивних клітин або *in vivo*, або *in vitro*.

Посилення експресії молекул клітинної поверхні

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 посилює експресію молекул В-клітинної поверхні, в тому числі, але не обмежуючись ними, ICAM, MHC-II, B7-2, CD71, CD23 і CD83. У деяких варіантах здійснення даного винаходу концентрація антитіла 1мкг/мл посилює експресію молекули ICAM В-клітинної поверхні в цільній крові, підвищуючи її вміст щонайменше в 2 рази, або більш переважно, щонайменше в 4 рази. У деяких варіантах здійснення даного винаходу концентрація антитіла 1мкг/мл посилює експресію молекули MHC-II В-клітинної поверхні в цільній крові, підвищуючи її вміст щонайменше в 2 рази, або, більш переважно, щонайменше в 3 рази. У деяких варіантах здійснення даного винаходу концентрація антитіла 1мкг/мл посилює експресію молекули CD23 поверхні В-клітини в цільній крові, підвищуючи її вміст щонайменше в 2 рази або, більш переважно, щонайменше в 5 разів. Див., наприклад, Приклад VII, Таблиця 25.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 посилює експресію молекул, в тому числі, але не обмежуючись цим, MHC-II, ICAM, B7-2, CD83 і B7-1, на поверхні дендритних клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу діапазон підвищеного вмісту аналогічний діапазону підвищеного вмісту, що спостерігається в В-клітинах. Див., наприклад, Таблиці 25 і 26, нижче. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло переважно підвищує експресію молекул поверхні дендритних клітин, таких як B7-2 і MHC-II, в порівнянні з експресією цих молекул на поверхні В-клітин. Див., наприклад, Таблицю 27.

Посилення секреції клітинних цитокінів

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло посилює клітинну секрецію цитокінів, включаючи, але не обмежуючись ними, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18 і IL-23.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло посилює секрецію цитокінів дендритними клітинами і прилипаючими моноцитами. У деяких варіантах здійснення даного винаходу утворення цитокінів посилюється внаслідок ко-стимуляції одним або декількома LPS, IFN- $\gamma$  або IL-1 $\beta$ . Ще в одному аспекті даного винаходу в досліді з дендритними клітинами антитіло разом з LPS ко-стимулює посилення утворення IL-12p70 у відношенні EC<sub>50</sub> майже на 0,48мкг/мл. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло посилює утворення IL-12p40 в дендритних клітинах у відношенні EC<sub>50</sub> майже на 0,21мкг/мл. (Див., наприклад, Приклад VIII).

У деяких варіантах здійснення даного винахо-

ду антитіло посилює секрецію гамма-IFN Т-клітинами в досліді з Т-клітинами/дендритними клітинами, як описано в Прикладі VIII. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло посилює секрецію гамма-IFN в досліді з Т-клітинами/дендритними клітинами, що стосується EC<sub>50</sub>, майже на 0,3мкг/мл. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло посилює секрецію гамма-IFN в досліді з Т-клітинами/дендритними клітинами, що стосується EC<sub>50</sub>, майже на 0,2мкг/мл. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло посилює секрецію гамма-IFN в досліді з Т-клітинами/дендритними клітинами, що стосується EC<sub>50</sub>, майже на 0,03мкг/мл.

Способи отримання антитіл і антитілопродукуючих клітинних ліній

Імунізація

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіла людини отримують шляхом імунізації тварини, що не є людиною, антигеном CD40, що містить в своєму геномі деякі або всі локуси важкого і легкого ланцюга імуноглобуліну людини. У переважних варіантах здійснення даного винаходу тварина, що не є людиною, являє собою XenoMouse™-тварину (ксеногенна миша).

XenoMouse™-миші представлені генно-інженерними мишачими лініями, які містять великі фрагменти важкого ланцюга і легкого ланцюга імуноглобулінових локусів людини і є дефектними відносно вироблення мишачих антитіл. Див., наприклад, [Green et al., Nature Genetics 7: 13-21 (1994) і Патенти США №№5916771, 5939598, 5985615, 5998209, 6075181, 6091001, 6114598, 6130364, 6162963 і 6150584. Див. також WO 91/10741, WO 94/02602, WO 96/34096, WO 96/33735, WO 98/16654, WO 98/24893, WO 98/50433, WO 99/45031, WO 99/53049, WO 00/09560 і WO 00/037504].

В іншому аспекті в даному винаході розроблений спосіб отримання антитіл у тварин, що не належать до людського роду, і що не відносяться до мишей, шляхом імунізації антигеном CD40, а також у трансгенних тварин, що не належать до людського роду, які включають імуноглобулінові локуси людини. Таких тварин можна отримати, використовуючи способи, описані в цитованих вище документах. Способи, розкриті в цих документах, можна модифікувати, як описано в [Патенті США №5994619]. У переважних варіантах здійснення даного винаходу тварини, що не належать до людського роду, являють собою щурів, вівці, свиней, кіз, велику рогату худобу і коней.

XenoMouse™-миші, подібні до дорослої людини, продукують набір повнорозмірних людських антитіл і синтезують антиген-специфічні антитіла людини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу XenoMouse™-миші містять приблизно 80% набору антитіл людського гена V, отриманого внаслідок введення ділянки штучної дріжджової хромосоми (YAC) з конфігурацією клітин зародкової лінії і розміром до однієї т.н., що містить локуси важкого і легкого каппа-ланцюга людини. [Див. Mendez et al., Nature Genetics 15: 146-156 (1997), Green and Jakobovits, J. Exp. med. 188: 483-495



(1998) і WO 98/24893], розкриття яких включено тут шляхом посилання.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу тварина, що не належить до людського роду, яка включає імуноглобулінові гени людини, являє собою тварину, яка володіє "імуноглобуліновим мінілокусом" людини. У такому "мінілокусному" методі екзогенний Ig-локус імітується шляхом включення індивідуальних генів з Ig-локусу. Відповідно до цього, один або декілька V<sub>H</sub>-генів, один або декілька D<sub>H</sub>-генів, один або декілька J<sub>H</sub>-генів, константний домен ти, і другий константний домен (переважно константний гамма-домен) вводять в конструкцію для впровадження в тварину. Даний метод описаний, зокрема, в [Патентах США №№5545807, 5545806, 5569825, 5625126, 5633425, 5661016, 5770429, 5789650, 5814318, 5591669, 5612205, 5721367, 5789215 і 5643763], включених таким чином шляхом посилання.

Перевага мінілокусного методу полягає в швидкості, з якою можуть бути утворені і впроваджені тваринам конструкції, які містять частини IG-локусу. Разом з тим, потенційна незручність даного мінілокусного методу полягає у відсутності достатньої різноманітності імуноглобулінів, необхідної для підтримки повного розвитку В-клітин, що може знижувати продукцію антитіл.

В іншому аспекті в даному винаході розроблений спосіб отримання гуманізованих антитіл до CD40. У деяких варіантах здійснення даного винаходу, тварин, що не є людиною, імунізують CD40-антигеном, як описано нижче, в умовах, які надають можливість для отримання антитіл. З імунізованих тварин виділяють антитілопродукуючі клітини, зливають з мієломними клітинами для отримання гібридом, з яких виділяють нуклеїнові кислоти, що кодують важкий і легкий ланцюги CD40-антитіла, що представляє інтерес. Дані нуклеїнові кислоти послідовно створюють, використовуючи генно-інженерні методи, відомі фахівцям в даній галузі і, як описано нижче, зменшують розмір надлюдської послідовності, тобто гуманізуючи дане антитіло для зменшення імунної реакції у людей.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антиген CD40 відділяють і/або виділяють очищенням. У переважному варіанті здійснення даного винаходу антиген CD40 являє собою CD40 людини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антиген CD40 являє собою фрагмент CD40. У деяких варіантах здійснення даного винаходу фрагмент антигену CD40 являє собою позаклітинний домен CD40. У деяких варіантах здійснення даного винаходу фрагмент антигену CD40 включає в себе щонайменше один епітоп з CD40. В інших варіантах здійснення даного винаходу антиген CD40 являє собою клітину, яка на своїй поверхні експресує або надекспресує CD40 або його імуногенний фрагмент. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антиген CD40 являє собою злитий білок CD40.

Імунізацію тварин можна здійснити будь-яким способом, відомим в даній галузі. Див., наприклад, Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Press, 1990. Способи

імунізації відмінних від людини тварин, таких як миші, щури, вівці, кози, свині, велика рогата худоба і коні, добре відомі в даній галузі. Див., [наприклад, Harlow and Lane, вище, а також Патент США №5994619]. У переважному варіанті здійснення антиген CD40 вводять з ад'ювантом для стимуляції імунної відповіді. Зразки ад'ювантів включають в себе повний або неповний ад'ювант Фрейнда, RIBI (мурамільні дипептиди) або ISCOM (імуностимулюючі комплекси). Такі ад'юванти можуть захистити даний поліпептид від розсмоктування шляхом його зв'язування в локальний осад, або ж вони можуть містити речовини, які стимулюють хазяїна виділяти фактори, що викликають хемотаксис макрофагів і інших компонентів даної імунної системи. Переважно при введенні поліпептиду режим імунізації розтягувати на декілька тижнів і включати два або більше введення даного поліпептиду.

Приклад I описує отримання моноклональних антитіл до CD40.

Отримання антитіл і антитілопродукуючих клітинних ліній

Після імунізації тварини антигеном CD40 з цієї тварини можна отримати антитіла і/або антитілопродукуючі клітини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сироватку, що містить антитіло до CD40, отримують від тварини шляхом взяття крові або умертвіння тварини. Цю сироватку можна використати як отриману від тварини для отримання з неї імуноглобулінової фракції або для виділення шляхом очищення з сироватки антитіл до CD40. Фахівцям в даній галузі добре відомо, що сироватка або імуноглобуліни, отримана даним способом, є поліклональними. Незручність використання поліклональних антитіл отримуваних з сироватки, полягає в тому, що кількість отримуваних антитіл обмежена, і дане поліклональне антитіло володіє сукупністю різних характеристик.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитілопродукуючі іморталізовані клітинні лінії отримують з клітин, виділених з імунізованої тварини. Після імунізації тварину умертвляють, а лімфатичні вузли і/або В-клітини селезінки іморталізують. Способи іморталізації клітин включають в себе, не обмежуючись цим, перенесення їх разом з онкогенами, зараження їх онкогенним вірусом, культивування їх в умовах, в яких відбирають іморталізовані клітини, вплив на них канцерогенних і мутагенних сполук, злиття їх з іморталізованою клітиною, наприклад, з мієломною клітиною, і інактивація пухлинного гена-супресора. Див., наприклад Harlow and Lane, вище. Якщо використовують злиття з мієломними клітинами, то такі мієломні клітини переважно не секретиують імуноглобулінові поліпептиди (несекретуюча клітинна лінія). Іморталізовані клітини скринують з використанням CD40, його ділянки, або з використанням клітини, що експресує CD40. У переважному варіанті здійснення даного винаходу початкове скринування здійснюють з використанням імуноферментного аналізу або радіоімуноаналізу. Приклад ІФА-скринування описаний в [WO 00/37504], включеної тут шляхом посилання.

Клітини, що продукують антитіло до CD40, на-

приклад, гібридами, відбирають, клонують і в подальшому скринують на предмет виявлення потрібних характеристик, включаючи стійкий ріст, високий вихід і необхідні властивості антитіл, що розглядається далі нижче. Гібридами можна розмножувати *in vivo* в організмі сингенних тварин, в організмі тварин з недостатньою імунною системою, наприклад, у голих мишей, або в культурі клітин *in vitro*. Способи селекції, клонування і розмноження гібридом добре відомі рядовим фахівцям в даній галузі.

У переважному варіанті здійснення даного винаходу імунізована тварина являє собою тварину, що не належить до людського роду, яка експресує імуноглобулінові гени людини, а його В-клітини селезінки зливають з мієломною клітинною лінією тварини того ж виду, що і вказана імунізована тварина, яка не є людиною. У більш переважному варіанті здійснення даного винаходу імунізована тварина є XENOMOUSE™-твариною, а мієломна клітинна лінія представлена несекретуючою мишачою мієломою. У ще більш переважному варіанті здійснення даного винаходу мієломна клітинна лінія являє собою P3-X63-AG8.653. Див., наприклад, Приклад I.

Крім того, в даному винаході створені гібридами, що виробляють антитіла людини до CD40. У переважному варіанті здійснення даного винаходу, дані гібридами являють собою мишачі гібридами, які описані вище. В інших варіантах здійснення даного винаходу такі гібридами створюють в організмі тварин (але не людини), в організмі таких як тварин як щури, вівці, свині, кози, велика рогата худоба або коні, але не миші. В іншому варіанті здійснення даного винаходу гібридами являють собою гібридами людини.

Нуклеїнові кислоти, вектори, хазяйські клітини і способи створення рекомбінантних антитіл

#### Нуклеїнові кислоти

Даний винахід включає в себе молекули нуклеїнової кислоти, що кодують антитіла проти CD. У деяких варіантах здійснення даного винаходу різні молекули нуклеїнової кислоти кодують важкий ланцюг і легкий ланцюг імуноглобуліну до CD. В інших варіантах здійснення даного винаходу одна і та ж молекула нуклеїнової кислоти кодує важкий ланцюг і легкий ланцюг імуноглобуліну до CD40.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти, що кодує варіабельний домен легкого ланцюга, включає в себе генну послідовність людини A3/A19 (DPK-15), L5 (DP5) або A27 (DPK-22) V<sub>κ</sub> або отриману з них послідовність. В інших варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти включає в себе нуклеотидну послідовність гена A3/A19 V<sub>κ</sub> і гена J<sub>κ</sub>1, J<sub>κ</sub>2 або J<sub>κ</sub>3, або послідовність, отриману з них. У деяких варіантах здійснення даного винаходу дана молекула нуклеїнової кислоти включає в себе нуклеотидну послідовність гена L5 V<sub>κ</sub> і гена J<sub>κ</sub>4. В інших варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти включає в себе нуклеотидну послідовність гена A27 V<sub>κ</sub> і гена J<sub>κ</sub>3.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти, що кодує легкий

ланцюг, кодує амінокислотну послідовність, що містить 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10 мутацій з амінокислотної послідовності клітин зародкової лінії. У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти включає в себе нуклеотидну послідовність, що кодує амінокислотну послідовність V<sub>L</sub>, що містить 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10 неконсервативних амінокислотних замінів/або 1, 2 або 3 неконсервативних замінів в порівнянні з послідовністю з клітин зародкової лінії. Заміни можуть знаходитися в CDR-ділянках, в каркасних ділянках або в константному домені.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти, що кодує варіабельний домен легкого ланцюга (V<sub>L</sub>), кодує амінокислотну послідовність V<sub>L</sub>, що містить одну або декілька мутацій в порівнянні з послідовністю з клітин зародкової лінії, які ідентичні мутаціям, що виявляються в V<sub>L</sub> одного з антитіл 3.1.1, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1 і 24.2.1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти кодує щонайменше три амінокислотні мутації, в порівнянні з послідовністю з клітин зародкової лінії, що виявляються в V<sub>L</sub> одного з антитіл 3.1.1, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1 і 24.2.1.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти включає в себе нуклеотидну послідовність, яка кодує амінокислотну послідовність V<sub>L</sub> моноклонального антитіла 3.1.1 (SEQ ID NO: 4), 3.1.1 L-L4M-L83V (SEQ ID NO: 94), 7.1.2 (SEQ ID NO: 12), 10.8.3 (SEQ ID NO: 20), 15.1.1 (SEQ ID NO: 28), 21.2.1 (SEQ ID NO: 36), 21.4.1 (SEQ ID NO: 44), 22.1.1 (SEQ ID NO: 52), 23.5.1 (SEQ ID NO: 60), 23.28.1 (SEQ ID NO: 68), 23.28.1 L-C92A (SEQ ID NO: 100), 23.29.1 (SEQ ID NO: 76) або 24.2.1 (SEQ ID NO: 84) або її частину. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вказана частина включає в себе щонайменше CDR3-ділянку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу нуклеїнова кислота кодує амінокислотну послідовність легкого ланцюга CDR вказаного антитіла. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вказана частина являє собою суміжну частину, що включає в себе CDR1-CDR3.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти включає в себе нуклеотидну послідовність, яка кодує амінокислотну послідовність однієї з SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94 або 100, або вказану послідовність без сигнальної послідовності. У деяких переважних варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти включає в себе нуклеотидну послідовність з SEQ ID NO: 3, 11, 19, 27, 35, 43, 51, 59, 67, 75, 83, 93 або 99, або її частину, причому у вказаній послідовності не обов'язково відсутня сигнальна послідовність.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу вказана частина кодує V<sub>L</sub>-ділянку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вказана частина кодує щонайменше ділянку CDR2. У деяких варіантах здійснення даного винаходу нуклеїнова

кислота кодує амінокислотну послідовність легкого ланцюга CDR вказаного антитіла. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вказана частина кодує прилеглу ділянку з CDR1-CDR3.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти кодує амінокислотну послідовність  $V_L$ , яка ідентична, щонайменше на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%,  $V_L$ -амінокислотній послідовності одного з антитіл 3.1.1, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1, або 24.2.1, або  $V_L$ -амінокислотній послідовності будь-якої з SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94 або 100. Молекули нуклеїнової кислоти згідно з винаходом включають в себе нуклеїнові кислоти, які гібридизуються в жорстких умовах, таких, які описані вище, з послідовністю нуклеїнової кислоти, що кодує амінокислотну послідовність з числа SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94 або 100, або яка володіє послідовністю нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 3, 11, 19, 27, 35, 43, 51, 59, 67, 75, 83, 93 або 99.

В інших варіантах здійснення даного винаходу послідовність нуклеїнової кислоти кодує повнорозмірний легкий ланцюг антитіла, вибраного з 3.1.1, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1, 23.29.1 L-R174K або 24.2.1, або легкий ланцюг, що включає в себе амінокислотну послідовність з числа SEQ ID NO: 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64, 72, 80, 88, 94, 100 або 102, або легкий ланцюг, що містить таку мутацію, як розкрита тут мутація. Крім того, нуклеїнова кислота може включати в себе нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 7, 15, 23, 31, 39, 47, 55, 63, 71, 79 або 87, або молекулу нуклеїнової кислоти, що кодує легкий ланцюг, який містить одну з мутацій, яка розкрита тут.

В іншому переважному варіанті здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти кодує варіабельний домен важкого ланцюга ( $V_H$ ), який включає в себе генну послідовність  $V_H$  людини 3-30+, 4-59, 1-02, 4.35 або 3-30.3 або послідовність, отриману з неї. У різних варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти включає в себе  $V_H$ -ген людини 3-30+, ген D4 (DIR3) і ген JH6 людини;  $V_H$ -ген людини 3-30+, ген D4 (DIR3) і ген JH6 людини;  $V_H$ -ген людини 4.35, ген DIR3 і ген JH4 людини;  $V_H$ -ген людини 4-59, ген D4-23 і ген JH4 людини;  $V_H$ -ген людини 1-02, ген DLR1 і ген JH4 людини;  $V_H$ -ген людини 3-30+, ген D6-19 (DIR3) і ген JH4 людини;  $V_H$ -ген людини 3-30+, ген D1-1 і ген JH6 людини;  $V_H$ -ген людини 3-30+, ген D4-17 і ген JH6 людини;  $V_H$ -ген людини 3-30.3, ген D4-17 і ген JH6 людини;  $V_H$ -ген людини 4-59, ген D4-17 (DIR1) і ген JH5 людини, або послідовності, отримані з цих генів людини.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти кодує амінокислотну послідовність, що містить 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 або 18 мутацій в порівнянні з амінокислотною послідовністю генів клітин зародкової лінії людини V, D або J. В деяких варіантах здійснення даного винаходу вказані мутації знаходяться в  $V_H$ -ділянці. У деяких варіантах

здійснення даного винаходу вказані мутації знаходяться в CDR-ділянках.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти кодує одну або декілька амінокислотних мутацій, в порівнянні з послідовністю з клітин зародкової лінії, які ідентичні амінокислотним мутаціям, що виявляються в  $V_H$  моноклонального антитіла 3.1.1, 3.1.1 H-A78T, 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.29.1 і 24.2.1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу нуклеїнова кислота кодує щонайменше три амінокислотні мутації в порівнянні з послідовностями з клітин зародкової лінії, які ідентичні щонайменше трьом амінокислотним мутаціям, які виявляються в одному з перелічених вище моноклональних антитіл.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти включає в себе нуклеотидну послідовність, яка кодує щонайменше частину амінокислотної послідовності  $V_H$  антитіла 3.1.1 (SEQ ID NO: 2), 3.1.1 H-A78T (SEQ ID NO: 90), 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A (SEQ ID NO: 92), 7.1.2 (SEQ ID NO: 10), 10.8.3 (SEQ ID NO: 18), 15.1.1 (SEQ ID NO: 26), 21.2.1 (SEQ ID NO: 34), 21.4.1 (SEQ ID NO: 42), 22.1.1 (SEQ ID NO: 50), 22.1.1 H-C109A (SEQ ID NO: 96), 23.5.1 (SEQ ID NO: 58), 23.28.1 (SEQ ID NO: 66), 23.28.1 H-D16E (SEQ ID NO: 98), 23.29.1 (SEQ ID NO: 74) або 24.2.1 (SEQ ID NO: 82), або вказана послідовність володіє консервативними амінокислотними мутаціями і/або загалом трьома або менше неконсервативними амінокислотними замінами. У різних варіантах здійснення даного винаходу дана послідовність кодує одну або декілька CDR-ділянок, переважно CDR3-ділянку, всі три CDR-ділянки, суміжну частину, що включає в себе CDR1-CDR3, або повну  $V_H$ -ділянку з сигнальною послідовністю або без неї.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти включає в себе нуклеотидну послідовність, яка кодує амінокислотну послідовність з числа SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 або 98, або вказану послідовність без сигнальної послідовності. У деяких переважних варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти включає в себе щонайменше частину нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 91, 95 або 97, або вказану послідовність без сигнальної послідовності.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу вказана частина кодує  $V_H$ -ділянку (з сигнальною послідовністю або без неї), CDR3-ділянку, всі три CDR-ділянки або прилеглу суміжну ділянку, що містить CDR1-CDR3.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти кодує амінокислотну послідовність  $V_H$ , яка ідентична, щонайменше на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% або 99%, амінокислотній послідовності  $V_H$ , представленій на Fig.1A-1C або 2A-2C, або амінокислотній послідовності  $V_H$  з будь-якої SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 або

98. Молекули нуклеїнової кислоти згідно з винаходом включають в себе нуклеїнові кислоти, які гібридизуються в жорстких умовах, таких, які описані вище, з послідовністю нуклеїнової кислоти, що кодує амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 або 98, або яка володіє послідовністю нуклеїнової кислоти SEQID NO: 1, 9,17, 25, 33,41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 91, 95 або 97. Послідовність нуклеїнової кислоти згідно з винаходом включає в себе молекулу нуклеїнової кислоти, яка гібридизується в жорстких умовах, таких, які описані вище, з послідовністю нуклеїнової кислоти, що кодує щойно описану вище  $V_H$ .

В іншому варіанті здійснення даного винаходу нуклеїнова кислота кодує повнорозмірний важкий ланцюг антитіла, вибраного з 3.1.1, 3.1.1 H-A78T, 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.29.1 I 24.2.1, або важкий ланцюг, що володіє амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 6, 14, 22, 30, 38, 46, 54, 62, 70, 78 або 86, або важкий ланцюг, що містить мутацію, таку як одна з мутацій, що розглядаються тут. Крім того, нуклеїнова кислота включає в себе нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 5, 13, 21, 29, 37, 45, 53, 61, 69, 77, 85 або 89, або послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує важкий ланцюг, який містить мутацію, таку як одна з мутацій, що розглядаються тут.

Молекула нуклеїнової кислоти, що кодує важкий або повний легкий ланцюг антитіла до CD40 або їх частини, може бути виділена з будь-якого джерела, яке виробляє таке антитіло. У різних варіантах здійснення даного винаходу молекули нуклеїнової кислоти виділяють з В-клітини, виділеної з тварини, імунованої CD40, або з іморталізованої клітини, виробленої від такої В-клітини, що експресує антитіло до CD40. Способи виділення мРНК, що кодує антитіло, добре відомі в даній галузі. Див., наприклад, Sambrook et al. Виділену мРНК можна застосовувати для отримання кДНК при використанні в полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР) або для кДНК-клонування антитільних генів. У переважному варіанті здійснення даного винаходу молекулу нуклеїнової кислоти виділяють з гібридами, що містить як одне з своїх партнерів злиття імуноглобулін-продукуючу клітину, виділену з трансгенної тварини, що не належить людському роду. У ще більш переважному варіанті здійснення даного винаходу клітину, що продукує імуноглобулін людини, виділяють з XenoMouse™-тварини. В іншому варіанті здійснення даного винаходу клітина, що продукує імуноглобулін людини, походить від будь-якої транс генної тварини, як описано вище, але не від людини і не від миші. В іншому варіанті здійснення даного винаходу нуклеїнову кислоту виділяють з нетрансгенної тварини, але не людини. Молекули нуклеїнової кислоти, що виділяються з такої нетрансгенної тварини, можуть використовуватися, наприклад, для отримання гуманізованих антитіл.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу нуклеїнова кислота, що кодує важкий ланцюг антитіла до CD40 згідно з винаходом, може вклю-

чати в себе нуклеотидну послідовність, що кодує  $V_H$ -домен згідно з винаходом, об'єднану в одній рамці прочитання з нуклеотидною послідовністю, що кодує важкий ланцюг константного домену з будь-якого джерела. Аналогічним чином, молекула нуклеїнової кислоти, що кодує легкий ланцюг антитіла до CD40 згідно з винаходом, може включати в себе нуклеотидну послідовність, що кодує  $V_H$ -домен згідно з винаходом, об'єднану в одній рамці прочитання з нуклеотидною послідовністю, що кодує легкий ланцюг константного домену з будь-якого джерела.

У додатковому аспекті даного винаходу молекули нуклеїнової кислоти, що кодують варіабельний домен важкого ( $V_H$ ) і легкого ( $V_L$ ) ланцюгів, перетворюють в повнорозмірні антитільні гени. В одному з варіантів даного винаходу молекули нуклеїнової кислоти, що кодують домени  $V_H$  або  $V_L$ , перетворюють в повнорозмірні гени антитіл шляхом вбудовування в експресуючий вектор константних доменів, що вже кодують, відповідно, важкий ланцюг або легкий ланцюг, і вбудовують так, щоб в даному векторі приєднати шляхом зшивки  $V_H$ -сегмент до  $C_H$ -сегменту(ам), а  $V_L$ -сегмент приєднати шляхом зшивки до  $C_L$ -сегменту. В іншому варіанті здійснення даного винаходу, використовуючи стандартні методи молекулярної біології, молекули нуклеїнової кислоти, що кодують домени  $V_H$  і/або  $V_L$ , перетворюють в повнорозмірні гени антитіл шляхом зшивки (наприклад, лігування) молекули нуклеїнової кислоти, що кодує домени  $C_H$  і/або  $C_L$ . Послідовності нуклеїнової кислоти константних доменів важкого і легкого ланцюга імуноглобулінових генів відомі в даній галузі. [Див., наприклад, Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., NIH Publ. №91-3242, 1991]. Молекули нуклеїнової кислоти, що кодують повнорозмірні важкий і/або легкий ланцюги, можна потім експресувати у вбудованій клітині і виділити антитіло до CD40.

Молекули нуклеїнової кислоти можна використати для рекомбінантної експресії великих кількостей антитіл до CD40. Нижче описано, як дані молекули нуклеїнової кислоти можна використати для отримання химерних антитіл, біспецифічних антитіл, одноланцюгових антитіл, імуноадгезинів, діатілець, мутованих антитіл і похідних антитіл. Якщо дані молекули нуклеїнової кислоти отримані не з людини, а з нетрансгенної тварини, то ці молекули нуклеїнової кислоти можна використати для гуманізації антитіла, що також описано нижче.

В іншому варіанті здійснення даного винаходу молекулу нуклеїнової кислоти згідно з винаходом використовують як зонд або ПЛР-праймер для специфічної антитільної послідовності. Наприклад, нуклеїнову кислоту можна використати як зонд в діагностичних способах або як ПЛР-праймер для ампліфікації ділянок ДНК, які можна було б використати, зокрема, для виділення додаткових молекул нуклеїнової кислоти, що кодують варіабельні домени антитіл до CD40. У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекули нуклеїнової кислоти являють собою олігонуклеотиди. В інших варіантах здійснення даного винаходу олігонуклеотиди походять з високоваріабельних ділянок важ-

кого і легкого ланцюгів антитіла, що представляє інтерес. У деяких варіантах здійснення даного винаходу олігонуклеотиди кодують повністю або частково одне або декілька CDR антитіла 3.1.1, 3.1.1 H-A78T, 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1 або 24.2.1.

#### Вектори

У даному винаході створені вектори, що включають в себе молекули нуклеїнової кислоти, які кодують важкий ланцюг антитіла до CD40 згідно з винаходом або його антигензв'язувальну частину. У даному винаході створені також вектори, що включають в себе молекули нуклеїнової кислоти, які кодують легкий ланцюг таких антитіл або їх антигензв'язувальну частину. Крім того, в даному винаході створені вектори, що включають в себе молекули нуклеїнової кислоти, що кодують злиті білки, модифіковані антитіла, антитільні фрагменти і їх зонди.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіла до CD40 або антигензв'язувальні частини згідно з винаходом експресуються шляхом вбудовування ДНК, що кодують неповні або повнорозмірні легкий і важкий ланцюги, отримані, як описано вище, в експресуючі вектори, так, щоб ці гени виявилися приєднаними шляхом зшивки до необхідних експресійних контрольних послідовностей, таких як транскрипційні і трансляційні контрольні послідовності. Експресуючі вектори включають в себе плазмиди, ретровіруси, аденовіруси, аденоасоційовані віруси (AAV), рослинні віруси, такі як вірус мозаїки цвітної капусти, вірус тютюнової мозаїки, косміди, YAC, похідні EBV епісоми і тому подібне. Ген антитіла лігують у вектор так, щоб транскрипційна і трансляційна контрольні послідовності у векторі виконували свою передбачувану функцію регуляції транскрипції і трансляції антитільного гена. Вибирають експресуючий вектор і експресійні контрольні послідовності, які сумісні з експресуючою хазяйською клітиною, що використовується. Ген легкого ланцюга антитіла і ген важкого ланцюга антитіла можна вбудувати в різні вектори. У переважному варіанті здійснення даного винаходу обидва гени вбудовують в один і той же експресуючий вектор. Антитільні гени вбудовують в експресуючий вектор за допомогою стандартних способів (наприклад, лігуванням комплементарних сайтів рестрикції фрагмента антитільного гена і вектора або лігуванням по тупих кінцях, як що сайти рестрикції не представлені).

Зручним вектором є вектор, який кодує функціонально повну, імуноглобулінову послідовність  $C_H$  або  $C_L$  людини з відповідними сконструйованими сайтами рестрикції, так, щоб послідовності  $V_H$  або  $V_L$  можна було легко вбудувати і експресувати, як описано вище. У таких векторах сплайсинг звичайно відбувається між донорним сайтом сплайсинга, в J-ділянці, що вбудовується, і акцепторним сайтом сплайсинга, попереднім людському C-доміну, а також на ділянках сплайсинга, які знаходяться в  $C_H$ -екзонах людини. Поліаденілювання і термінація транскрипції відбуваються в нативних хромосомних сайтах правіше від кодуючих діля-

нок. Рекombінантний експресуючий вектор може також кодувати сигнальну послідовність, яка забезпечує секрецію антитільного ланцюга з хазяйської клітини. Ген антитільного ланцюга можна клонувати у вектор так, щоб сигнальний пептид виявлявся приєднаним до амінокінця імуноглобулінового ланцюга. Сигнальний пептид може являти собою імуноглобуліновий сигнальний пептид або гетерологічний сигнальний пептид (тобто сигнальний пептид неімуноглобулінового білка).

Крім генів антитільних ланцюгів, рекombінантні експресуючі вектори несуть регуляторні послідовності, які контролюють експресію генів антитільних ланцюгів в хазяйській клітині. Фахівцям в даній галузі потрібно мати на увазі, що створення експресуючого вектора, включаючи вибір регуляторних послідовностей, може залежати від таких чинників як вибір клітини-хазяїна, яка буде трансформована, рівня експресії необхідного білка і т.д. Переважні регуляторні послідовності експресії клітини-хазяїна ссавця включають в себе вірусні елементи, які контролюють високі рівні білкової експресії в клітинах ссавця, такі як промотори і/або енхансери, отримані з ретровірусних LTR, цитомегаловірусу (CMV) (такий як CMV-промотор/енхансер), вірусу 40 імунодефіциту мавп (SV40) (такий як SV40-промотор/енхансер), аденовірусу (наприклад, великий пізній промотор аденовірусу (AdMLP)), поліоми і сильні промотори ссавця у вигляді імуноглобулінового і актинового промоторів. Більш повний опис вірусних регуляторних елементів і їх послідовностей див., наприклад, в [Патенті США №5168062, Патенті США №4510245 і Патенті США №4968615]. Способи експресії антитіл у рослин, включаючи опис промоторів і векторів, а також трансформація рослин, відомі в даній галузі. [Див., наприклад, Патент США №6517529], включений тут шляхом посилання. Способи експресії поліпептидів в бактерійних клітинах або клітинах грибів, наприклад, в дріжджових клітинах, також добре відомі в даній галузі.

Крім генів антитільних ланцюгів і регуляторних послідовностей, рекombінантні експресуючі вектори згідно з винаходом можуть нести додаткові послідовності, такі, наприклад, як послідовності, які регулюють реплікацію даного вектора в хазяйських клітинах (наприклад, ориджини реплікації) і селективні маркерні гени. Селективний маркерний ген забезпечує селекцію хазяйських клітин, в які вектор вбудований [див., наприклад, Патенти США №4399216, 4634665 і 5179017]. Наприклад, типово селективний маркерний ген додає резистентність до лікарських засобів, таких як G418, піроміцин або метотрексат, хазяйській клітці, в яку вбудований даний вектор. Переважні селективні маркерні гени включають в себе ген дигідрофолатредуктази (DHFR) (для використання в dhfr-хазяйських клітинах з селекцією/ампліфікацією по метотрексату), нео-ген (для G418-селекції), і ген глутаматсинтетази.

Негібридомні хазяйські клітини і способи рекombінантного отримання білка

Молекули нуклеїнової кислоти, що кодують антитіла до CD і вектори, що включають ці молекули нуклеїнової кислоти, можна використати для

трансфекції хазяйських клітин відповідного ссавця, рослини, бактерії або дріжджової клітини. Трансформацію можна здійснювати за допомогою будь-якого відомого способу впровадження полінуклеотидів в хазяйську клітину. Способи впровадження гетерологічних полінуклеотидів в клітини ссавців добре відомі в даній галузі і включають в себе опосередковану декстраном трансфекцію, кальцій-фосфатне осадження, polybrene-опосередковану трансфекцію, злиття протопластів, електропорацію, інкапсулювання полінуклеотиду(ів) в ліпосоми і пряму мікроін'єкцію ДНК в ядро. Крім того, молекули нуклеїнової кислоти можна впровадити в клітини ссавця за допомогою вірусних векторів. Способи трансформації клітин добре відомі в даній галузі. [Див., наприклад, Патенти США №№4399216, 4912040, 4740461, і 4959455] (патенти, які таким чином включені тут шляхом посилання). Способи трансформації рослинних клітин добре відомі в даній галузі, включаючи, наприклад, опосередковану *Agrobacterium* трансформацію, трансформацію шляхом бомбардування мікрочастинками, пряму ін'єкцію, електропорацію і вірусну трансформацію. Способи трансформації бактерійних і дріжджових клітин добре відомі в даній галузі.

Клітинні лінії ссавців, доступні як хазяйські для експресії, добре відомі в даній галузі і включають в себе численні лінії імуорталізованих клітин, доступних з Американської колекції типових культур (ATCC). Зокрема, вони включають в себе оваріальні клітини китайського хом'ячка (CHO), NSO, SP2-клітини, клітини HeLa, клітини нирки дитини хом'яка (BNK), клітини нирки мавпи (COS), клітини гепатоцелюлярної карциноми (наприклад, Hep G2), A549-клітини і ряд інших клітинних ліній. Особливо переважними клітинними лініями є клітинні лінії, вибрані шляхом визначення того, які клітинні лінії володіють високими рівнями експресії. Інші клітинні лінії, які можна використати, є клітинними лініями комах, наприклад, такі як 8t9-клітини. Коли рекомбінантні експресуючі вектори, що кодують антитільні гени, впроваджують в хазяйські клітини ссавця, відповідні антитіла продукуються шляхом культивування хазяйських клітин протягом періоду часу, достатнього для здійснення експресії даного антитіла в цих хазяйських клітинах або, більш переважно, шляхом секреції антитіла в культуральне середовище, в якому вирощують хазяйські клітини. Антитіла можна витягнути з культурального середовища з використанням стандартних способів виділення білка шляхом очищення. Рослинні хазяйські клітини включають в себе, наприклад, *Nicotiana*, *Arabidopsis*, ряску, кукурудзу, пшеницю, картоплю і інш. Бактерійні хазяйські клітини включають в себе *E. coli* і види *Streptomyces*. Дріжджові клітини включають в себе *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* і *Pichia pastoris*.

Далі, експресію антитіл згідно з винаходом (або інші їх складові) в продукуючих клітинних лініях можна посилити з використанням ряду відомих методів. Наприклад, експресуюча система глутамінсинтезного гена (GS-система) являє собою звичайне рішення посилення експресії в певних умовах. GS-система розглядається цілком або

частково в зв'язку з [Європейськими Патентами №№0216846, 0256055 і 0323997 і Європейською Патентною Заявкою №89303964.4].

Можливо, що антитіла, що експресуються різними клітинними лініями або в трансгенних тваринах, будуть володіти відмінним один від одного глікозилюванням. Однак всі антитіла, що кодуються створеними тут молекулами нуклеїнової кислоти або утримуючі представлені тут амінокислотні послідовності, є частиною даного винаходу, незалежно від глікозилювання антитіл.

Трансгенні тварини і рослини

Антитіла до CD40 згідно з винаходом можна отримати трансгенно шляхом створення ссавця або рослини, яка є трансгенно відносно представляючих інтерес імуноглобулінових послідовностей важкого і легкого ланцюгів і багаторазового отримання з них антитіла. У зв'язку з трансгенною продукцією у ссавців, антитіла до CD40 можна отримати і витягнути з молока кіз, корів або інших ссавців. Див., наприклад, [Патенти США №№5827690, 5756687, 5750172 і 5741957]. В інших варіантах здійснення даного винаходу трансгенних тварин, що не належать до людського роду, які містять імуноглобулінові локуси людини, імунізують CD40 або його імуногенною частиною, як описано вище. Способи створення антитіл у рослин описані, наприклад, в [Патентах США №№6046037 і 5959177].

У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансгенні тварини, що не належать до людського роду, або рослини отримують шляхом впровадження в дану тварину або рослину за допомогою стандартних трансгенних методик однієї або декількох молекул нуклеїнової кислоти, що кодують антитіло до CD40 згідно з винаходом. [Див. Hogan і Патент США №6417429], вище. Трансгенні клітини, що використовуються для створення трансгенної тварини, можуть являти собою ембріональні стовбурові клітини або соматичні клітини. Трансгенні тварини, що не належать до людського роду, можуть являти собою химерні, нехимерні гетерозиготи і нехимерні гомозиготи. [Див., наприклад, Hogan et al., *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual* 2ed., Cold Spring Harbor Press (1999); Jackson et al., *Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach*, Oxford University Press (2000); і Pinkert, *Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook*, Academic Press (1999)]. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансгенні тварини, що не належать до людського роду, мають направлений розрив і заміну в конструкції-мішені, яка кодує представляючий інтерес важкий ланцюг і/або легкий ланцюг. У переважному варіанті здійснення даного винаходу трансгенні тварини містять і експресують молекули нуклеїнової кислоти, що кодують важкий і легкий ланцюги, специфічно зв'язуючі CD40, переважно CD40 людини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансгенні тварини містять молекули нуклеїнової кислоти, що кодують модифіковане антитіло, таке як одноланцюгове антитіло, химерне антитіло або гуманізоване антитіло. Антитіла до CD40 можна створити в будь-якій трансгенній тварині. У пере-

важному варіанті здійснення даного винаходу тварини, що не належать до людського роду, являють собою мишей, шурів, вівці, свиней, кіз, велику рогату худоба або коней. Трансгенна тварина, що не належить до людського роду, експресує вказані поліпептиди, що кодуються в крові, молоці, сечі, слині, слизах, слизі і інших рідин організму.

Бібліотеки фагового дисплея

У даному винаході розроблений спосіб отримання антитіла до CD40 або його антигензв'язувальної частини, що включає в себе стадії синтезу бібліотеки антитіл людини в фагу, скрининга бібліотеки для CD40 або його частини, виділення фага, який зв'язує CD40, і отримання антитіла з даного фага. У прикладі здійснення один з способів отримання бібліотеки антитіл, оснований на використанні методики фагового дисплея, включає в себе визначені стадії імунізації тварини, що не належить до людського роду, яка містить імуноглобулінові локуси людини, для CD40 або його антигенної частини, для створення імунної відповіді, витягання антитілопродукуючих клітин з даної імунізованої тварини; стадії виділення РНК з витягнутих клітин, зворотного транскрибування РНК з утворенням кДНК, ампліфікації кДНК з використанням праймера, вбудовування кДНК у вектор фагового дисплея, так, щоб антитіла експресувалися в фагі. Рекомбінантні антитіла до CD40 згідно з винаходом можна отримати даним шляхом.

Рекомбінантні антитіла до CD40 згідно з винаходом можна виділити шляхом скринування рекомбінантної комбінаторної бібліотеки антитіл. Переважно дана бібліотека являє собою scFv-бібліотеку фагового дисплея, що утворюється з використанням  $V_L$ - і  $V_H$ -кДНК, що отримуються з мРНК, яка виділяється з В-клітин. Методи отримання і скринування таких бібліотек відомі в даній галузі. Існують комерційно доступні набори для створення бібліотек фагового дисплея [наприклад, Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, № за каталогом 27-9400-01; і Stratagene SurfZAP™ phage display kit, № за каталогом 240612]. Існують також і інші способи і реагенти, які можна використати для створення і скринування антитільних дисплейних бібліотек [див., наприклад, Патент США №5223409; Публікації PCT №WO 92/18619, WO 91/17271, WO 92/20791, WO 92/15679, WO 93/01288, WO 92/01047, WO 92/09690; Fuchs et al., Bio/Technology 9: 1370-1372 (1991); Hay et al., Hum. Antibod. Hybridomas 3: 81-85 (1992); Huse et al., Science 246: 1275-1281 (1989); McCafferty et al., Nature 348: 552-554 (1990); Griffiths et al., EMBO J. 12: 725-734 (1993); Hawkins et al., J. Mol. Biol. 226: 889-896 (1992); Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991); Gram et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 3576-3580 (1992); Garrad et al., Bio/Technology 9: 1373-1377 (1991); Hoogenboom et al., Nuc. Acid Res. 19: 4133-4137 (1991); і Barbas et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 7978-7982 (1991)].

В одному з варіантів здійснення даного винаходу для виділення антитіл людини до CD40 з необхідними характеристиками антитіла людини до CD40, як описано тут, уперше використовують для відбору послідовностей важкого і легкого ланцюга, що володіють подібною зв'язуючою активністю по

відношенню до CD40, застосовуючи способи епітопного імпринтинга, описані в [Публікації PCT №WO 93/06213]. Бібліотеки антитіл, що використовуються в даному способі, переважно являють собою scFv-бібліотеки, отримані і скриновані, як описано в [Публікації PCT №WO 92/01047, McCafferty et al., Nature 348: 552-554 (1990); і Griffiths et al., EMBO J. 12: 725-734 (1993)]. Бібліотеку антитіл scFv переважно скринують з використанням як антигену CD40 людини.

Після того як початкові домени  $V_L$  і  $V_H$  людини вибрані, здійснюють експерименти "змішати і зіставити", в яких різні пари початково вибраних  $V_L$ - і  $V_H$ -сегментів скринують відносно CD40-зв'язування з вибраними переважними  $V_L/V_H$ -парними поєднаннями. Крім того, для подальшого поліпшення якості даного антитіла, в сегментах  $V_L$  і  $V_H$  з переважної пари (пара)  $V_L/V_H$  випадковим чином викликають мутації, переважно в CDR3-ділянці  $V_H$  і/або  $V_L$ , в процесі, аналогічному соматичному мутаційному процесу *in vivo*, відповідальному за дозрівання по спорідненості антитіл протягом природної імунної відповіді. Дозрівання по спорідненості *in vitro* можна здійснити шляхом ампліфікації доменів  $V_H$  і  $V_L$  з використанням ПЛР-праймерів, комплементарних, відповідно,  $V_H$  CDR3 або  $V_L$  CDR3, в якій праймери "скріплюють" за допомогою випадкової суміші з чотирьох нуклеотидних основ в певних положеннях, так, що результуючі ПЛР-продукти кодують сегменти  $V_H$  і  $V_L$ , в які були інтродуковані випадкові мутації по  $V_H$  і/або  $V_L$  CDR3-ділянок. Ці випадковим чином мутовані сегменти  $V_H$  і  $V_L$  можна скринувати повторно відносно зв'язування з CD40.

Після скринування і виділення з рекомбінантної дисплейної бібліотеки імуноглобуліну до CD40 згідно з винаходом нуклеїнові кислоти, що кодують відібране антитіло, можна витягнути з дисплейного пакету (наприклад, з фагового геному) і субклонувати в інші експресуючі вектори за допомогою стандартних методів рекомбінантної ДНК. За необхідності, витягнуту нуклеїнову кислоту в подальшому можна використати для створення інших форм антитіл згідно з винаходом, як описано нижче. Щоб експресувати рекомбінантне антитіло людини, виділене шляхом скринування комбінаторної бібліотеки, ДНК, що кодує антитіло, клонують в рекомбінантний експресуючий вектор і впроваджують в хазяїнські клітини ссавця, як описано вище.

Перемикання класу

Інша мета даного винаходу полягає в розробці способу перетворення даного класу або підкласу антитіла до CD40 в інший клас або підклас. У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекула нуклеїнової кислоти, що кодує  $V_L$  або  $V_H$ , яка не включає які-небудь послідовності нуклеїнової кислоти, що кодують  $C_L$  або  $C_H$ , виділяють з використанням способів, добре відомих в даній галузі. Потім молекулу нуклеїнової кислоти приєднують шляхом зшивки до послідовності нуклеїнової кислоти, що кодує  $C_L$  або  $C_H$  необхідного класу або підкласу імуноглобулінів. Це можна здійснити з використанням вектора або молекули нуклеїнової кислоти, яка містить  $C_L$  або  $C_H$ -ланцюг, як описано вище. Наприклад, антитіло до CD40, яке спочатку

являє собою IgM, можна перемкнути (переробити) в клас IgG. Далі, клас перемикання можна використати для перетворення одного IgG-підкласу в інший, наприклад, з IgG1 в IgG2. Інший спосіб отримання антитіла згідно з винаходом, що містить необхідний ізотип, включає в себе стадії виділення нуклеїнової кислоти, яка кодує важкий ланцюг антитіла до CD40, і нуклеїнової кислоти, що кодує легкий ланцюг антитіла до CD40, виділення послідовності, що кодує  $V_H$ -ділянку, лігування даної  $V_H$ -послідовності з послідовністю, що кодує константний домен важкого ланцюга необхідного ізотипу, експресію гена легкого ланцюга і конструювання важкого ланцюга в клітині, і збирання антитіла до CD40 з необхідним ізотипом.

#### Деімунізовані антитіла

Інший шлях отримання антитіл зі зниженою імуногеністю полягає в деімунізації антитіл. В іншому аспекті даного винаходу дане антитіло можна деімунізувати з використанням методів, описаних, наприклад, в [Публікаціях PCT №WO 98/52976 і WO OD/34317 (які включені тут шляхом посилання в їх повноті)].

#### Мутантні антитіла

В іншому варіанті здійснення даного винаходу молекули нуклеїнової кислоти, вектори і хазяйські клітини можна використати для створення мутантних антитіл проти CD40. Антитіла можна змінити за допомогою мутацій по варіабельних доменах важкого і/або легкого ланцюгів, наприклад, змінити характеристики зв'язування антитіла. Наприклад, мутацію можна здійснити по одній або декількох CDR-ділянках для збільшення або зменшення  $K_D$  даного антитіла до CD40, для збільшення або зменшення  $K_{off}$  або для зміни специфічності зв'язування антитіла. Методи сайт-направленого мутагенезу добре відомі в даній галузі. [Див., наприклад, Sambrook et al. і Ausubel et al.], вище. У переважному варіанті здійснення даного винаходу мутації здійснюються по амінокислотному залишку, так, щоб він був змінений в порівнянні із залишком у варіабельному домені антитіла проти CD40 у клітин зародкової лінії. В іншому варіанті здійснення даного винаходу одну або декілька мутацій здійснюються по амінокислотному залишку, який відомим чином змінений в порівнянні із залишком з клітин зародкової лінії на CDR-ділянці або в ділянці рамки прочитання варіабельного домену, або в константному домені моноклонального антитіла 3.1.1, 3.1.1 H-A78T, 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1, 23.29.1 L-R174K і 24.2.1. В іншому варіанті здійснення даного винаходу одну або декілька мутацій здійснюються по амінокислотному залишку, який відомим чином змінений в порівнянні із залишком з клітин зародкової лінії на CDR-ділянці або в ділянці рамки прочитання варіабельного домену амінокислотної послідовності, вибраній з SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94, 100, 102, 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96, 98, 100 або 102, або послідовності нуклеїнової кислоти, яка представлена в SEQ ID NO: 3, 11, 19, 27, 35, 43, 51, 59, 61, 75, 83, 93, 99, 101, 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57,

65, 73, 81, 89, 91, 95, 97, 99 і 101.

В одному з варіантів здійснення даного винаходу ділянку рамки прочитання видозмінюють таким чином, щоб отримана ділянка (ділянки) володіла амінокислотною послідовністю відповідного гена клітин зародкової лінії. Мутацію можна здійснити в ділянці рамки прочитання або константного домену для збільшення часу напівжиття антитіла до CD40. Див., наприклад, Публікацію [PCT №WO 00/09560], включену тут шляхом посилання. Мутацію в ділянці рамки прочитання або константного домену можна також здійснити для зміни імуногенності антитіла, для створення сайту ковалентного або нековалентного зв'язування з іншою молекулою або для зміни таких характеристик як фіксація комплементу, FcR-зв'язування і ADCC. Відповідно до даного винаходу, одиночне антитіло може володіти мутаціями в будь-якій одній або декількох ділянках рамки прочитання, в константному домені і у варіабельних ділянках.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу існує від 1 до 18 амінокислотних мутацій в будь-якому з  $V_H$ - або  $V_L$ -доменів мутантного антитіла до CD40 (в тому числі будь-яке число мутацій між ними) в порівнянні з антитілом проти CD40 до мутування. У будь-якій з вищезгаданих ситуацій дані мутації можуть відбуватися в одній або в декількох CDR-ділянках. Далі, будь-яка мутація може бути представлена консервативними амінокислотними замінами. У деяких варіантах здійснення даного винаходу існує не більше ніж 5, 4, 3, 2, або 1 амінокислотних замінів в константних доменах.

#### Модифіковані антитіла

В іншому варіанті здійснення даного винаходу злисте антитіло або імуноадгезин можна здійснити так, щоб воно включало антитіло до CD40 згідно з винаходом, цілком або частково, приєднане до іншого поліпептиду. У переважному варіанті здійснення даного винаходу тільки варіабельні домени антитіла до CD40 сполучені з іншим поліпептидом. В іншому переважному варіанті здійснення даного винаходу  $V_H$ -домен антитіла до CD40 приєднаний до першого поліпептиду, а  $V_L$ -домен антитіла до CD40 приєднаний до другого поліпептиду, який пов'язаний з першим поліпептидом таким чином, що домени  $V_H$  і  $V_L$  можуть взаємодіяти один з одним з утворенням сайту зв'язування антитіла. В іншому переважному варіанті здійснення даного винаходу  $V_H$ -домен відділений від  $V_L$ -домена лінкером таким чином, що домени  $V_H$  і  $V_L$  можуть взаємодіяти один з одним (див. нижче в розділі "Одноланцюгові Антитіла"). У подальшому  $V_H$ -лінкер приєднується до поліпептиду, що представляє інтерес. Таке злиття антитіла корисне для направлення переходу поліпептиду в клітину або тканину, що експресує CD40. Поліпептид може являти собою терапевтичний агент, такий як токсин, фактор росту або інший регуляторний білок, або може являти собою діагностичний агент, такий як фермент, який можна легко візуалізувати, такий як пероксидаза хрому. Крім того, можна створити злиті антитіла, в яких сполучені один з одним два (або більше) одноланцюгові антитіла. Це зручно, коли хочуть створити бівалентне або полівалентне антитіло в одному поліпептидному ланцюгу або



коли хочуть створити антитіло з подвійною специфікою.

Для створення одноланцюгового антитіла (scFv) фрагменти  $V_H$ - і  $V_L$ -кодуєчої ДНК приєднують шляхом зшивки до іншого фрагмента, що кодує гнучкий лінкер, наприклад, що кодує дану амінокислотну послідовність (Gly4-Ser)3, так, щоб послідовності  $V_H$  і  $V_L$  могли експресуватися у вигляді відповідного суміжного одноланцюгового білка, що містить об'єднані гнучким лінкером  $V_L$ - і  $V_H$ -домени. [Див., наприклад, Bird et al., *Science* 242: 423-426 (1988); Huston et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 5879-5883 (1988); McCafferty et al., *Nature* 348: 552-554 (1990)]. Одноланцюгове антитіло може бути одновалентним, якщо використовуються тільки одиничні  $V_H$  і  $V_L$ , може бути бівалентним, якщо використовуються два  $V_H$  і  $V_L$ , або полівалентним, якщо використовуються більше двох  $V_H$  і  $V_L$ . Можна створити біспецифічні або полівалентні антитіла, які специфічно зв'язуються з CD40 і з іншою молекулою.

В інших варіантах здійснення даного винаходу можуть бути отримані інші модифіковані антитіла з використанням молекул нуклеїнової кислоти, що кодують антитіло до CD40. Наприклад, "Каплатільця" [Ili et al., *Protein Eng.* 10: 949-57 (1997)], "Мінітіліця" (Martin et al., *EMBO J.* 13: 5303-9 (1994)], "Діатільця" (Holliger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993)], або "Janusins" [Traunecker et al., *EMBO J.* 10: 3655-3659 (1991) і Traunecker et al., *Jnt. J. Cancer (Suppl.)* 7: 51-52 (1992)] можна отримати з використанням стандартних методів молекулярної біології, відповідно до вказівок відповідних описів.

Біспецифічні антитіла або антигензв'язувальні фрагменти можна отримати різноманітними способами, в тому числі злиттям гібридом або поєднанням Fab'-фрагментів. [Див., наприклад, Songsivai & Lachmann, *CHN. Exp. Immunol.* 79: 315-321 (1990), Kostelny et al., *J. Immunol.* 148: 1547-1553 (1992)]. Крім того, біспецифічні антитіла можна утворити у вигляді "діатілець" або "Janusins". У деяких варіантах здійснення даного винаходу біспецифічні антитіла зв'язують два різних епітопи CD40. У деяких варіантах здійснення даного винаходу біспецифічне антитіло володіє першим важким ланцюгом і першим легким ланцюгом моноклонального антитіла 3.1.1, 3.1.1 H-A78T, 3.1.1 H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1 L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1, 23.29.1 L-R174K і 24.2.1, і додатковим важким ланцюгом і легким ланцюгом антитіла. У деяких варіантах здійснення даного винаходу додатковий легкий ланцюг і важкий ланцюг також представлені ланцюгами одного з вищезгаданих моноклональних антитіл, але відрізняються від вказаного першого важкого і легкого ланцюгів.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу описані вище модифіковані антитіла отримують з використанням одного або декількох варіабельних доменів або CDR-ділянок створеного тут моноклонального антитіла людини до CD40, з амінокислотної послідовності вказаного моноклонального антитіла або з важкого ланцюга

або легкого ланцюга, що кодується послідовністю нуклеїнової кислоти, яка кодує вказане моноклональне антитіло.

Антитіла перетворені і мічені

Антитіло до CD40 або його антигензв'язувальну частину згідно з винаходом можна перетворити або з'єднати з іншою молекулою (наприклад, іншого пептиду або білка). Взагалі дане антитіло або його частину перетворюють так, щоб зв'язування CD40 не впливало негативним чином на перетворення або мічення. Відповідно до цього, антитіла або частини антитіл згідно з винаходом розповсюджуються як на інтактні, так і на модифіковані форми описаних тут антитіл людини проти CD40. Наприклад, антитіло або частину антитіла згідно з винаходом можна функціонально з'єднати (шляхом хімічного приєднання, генетичного злиття, нековалентного зв'язування або інакше) з одним або декількома іншими молекулярними елементами, такими як інше антитіло (наприклад, біспецифічне антитіло або діатільце), детектуючий агент, цитотоксичний агент, фармацевтичний агент і/або білок або пептид, які можуть опосередковувати зв'язок антитіла або його частини з іншою молекулою (такий як коропа ділянка стрептавідину або полігистидинова мітка).

Один з типів перетвореного антитіла отримують шляхом перехресного зв'язування двох або декількох антитіл (одного і того ж типу або різних типів, наприклад, для створення біспецифічних антитіл). Відповідні перехресні лінкери включають в себе лінкери, які є гетеробіфункціональними, що володіють двома різними реакційними групами, розділеними відповідним стейсером (наприклад, складний ефір мета-малеїмідобензоїл-N-гідроксисукциніміду) або гомобіфункціональними (наприклад, дисукцинімідисуберат). Такі лінкери доступні від Pierce Chemical Company, Rockford, Ill.

Інший тип перетвореного антитіла являє собою мічене антитіло. Придатні детектуючі агенти, за допомогою яких антитіло або антигензв'язувальну частину згідно з винаходом можна перетворити, включають в себе флуоресцентні сполуки, в тому числі флуоресцеїн, флуоресцеїнізотіоціанат, родамін,

5-диметиламін-1-нафталінсульфонілхлорид, фікоеретрин, лантанові фосфати і тому подібне. Антитіло можна також помітити за допомогою ферментів, які використовують для детекції, таких як пероксидаза хрому,  $\beta$ -галактозидаза, люцифераза, лужна фосфатаза, глюкооксидаза і тому подібне. Якщо антитіло мітять за допомогою детектованого ферменту, то його виявляють при доданні додаткових реагентів, щоб використати фермент для отримання продукту реакції, який можна візуально розпізнати. Наприклад, якщо агент являє собою пероксидазу хрому, то додання пероксиду водню і діамінобензидину дає кольоровий продукт реакції, який і детектується. Антитіло можна також мітити бфотіном і детектувати шляхом непрямого вимірювання авідинового або стрептавідинового зв'язування. Антитіло можна також мітити з допомогою епітопу заздалегідь встановленого поліпептиду, що пізнається вторинним репортером (наприклад, парними

послідовностями лейцинової застібки, сайтами зв'язування повторних антитіл, металозв'язувальними доменами, епітопними мітками). У деяких варіантах здійснення даного винаходу мітки приєднують за допомогою "ніжок" різної довжини, щоб зменшити можливе просторове ускладнення.

Антитіло до CD40 можна також мітити амінокислотою з радіоактивною міткою. Радіоактивна мітка може використовуватися для діагностичних і терапевтичних цілей. Наприклад, радіоактивна мітка може використовуватися для детекції пухлин, що експресують CD40, методами рентгенодіагностики або іншими методами діагностики. Далі, радіоактивна мітка може використовуватися терапевтично у вигляді токсину для ракових клітин або пухлин. Приклади міток для поліпептидів включають в себе, не обмежуючись ними, наступні радіоізотопи або радіонукліди -  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ .

Антитіло проти CD40 можна також перетворити за допомогою хімічної групи, такої як поліетиленгліколева (PEG), метилова або етилова група або за допомогою вуглеводної групи. Дані групи використовують для поліпшення біологічних характеристик антитіла, наприклад, для збільшення часу напівжиття сироватки або для підвищення тканинного зв'язування.

Фармацевтичні композиції і набори

Даний винахід відноситься також до композицій, що містять агоніст антитіла проти CD40 для лікування пацієнтів, потребуючих імунної стимуляції. Такі композиції використовують для лікування, попередження, зниження частоти або тяжкості інфікованості, включаючи вірусну і бактерійну інфікованість, для лікування гіперпроліферативного порушення, включаючи злоякісний і передраковий стани, для лікування генетичних імунodefіцитних станів у тварин, в тому числі і у людей, таких як синдром гіперсекреції IgM і для лікування первинних або комбінованих імунodefіцитних станів, включаючи стани, що характеризуються нейтропенією. Пацієнти, що зазнають лікування за допомогою терапії агоністом антитіла проти CD40, включають пацієнтів, потребуючих посилення імунітету, включають, не обмежуючись ними, людей похилого віку і індивідів, в яких імунітет пригнічений, наприклад внаслідок хіміотерапії.

Гіперпроліферативні порушення, які можна піддати лікуванню з допомогою агоністу антитіла проти CD40 згідно з винаходом, можуть торкатися будь-якої тканини або органу і включають в себе, не обмежуючись цим, злоякісні пухлини головного мозку, легенів, сквамозних клітин, сечового міхура, шлунка, підшлункової залози, молочної залози, голови, шиї, печінки, нирки, яєчника, передміхурової залози, прямої кишки, стравоходу, гінекологічні, носоглотки, або злоякісні пухлини щитовидної залози, меланоми, лімфоми, лейкозні або множинні мієломи. Зокрема, агоністи антитіла людини проти CD40 згідно з винаходом придатні для лікування карцином молочної залози, передміхурової залози, ободової кишки і легеня.

Лікування може включати в себе введення одного або декількох агоністів моноклональних антитіл проти CD40 згідно з винаходом або їх антиген-

зв'язувальних фрагментів, окремо або разом з фармацевтично прийнятним носієм. "Фармацевтично прийнятний носій", що використовується тут, означає будь-який або всі розчинники, диспергувальні середовища, сенсibiliзатори, антибактерійні і протигрибкові агенти, ізотонічні і затримуючі адсорбцію агенти і до них подібні, які фізіологічно сумісні. Деякі приклади фармацевтично прийнятих носіїв являють собою воду, фізіологічний розчин, фосфатно-сольовий буферний розчин, декстрозу, гліцерин, етанол і до них подібні, а також їх поєднання. У багатьох випадках в дану композицію переважно включати ізотонічні розчини, наприклад, цукор, поліспирти, такі як маніт, сорбіт, або хлорид натрію. Додаткові приклади фармацевтично сумісних речовин являють собою зволожуючі агенти, або мінорні кількості допоміжних речовин, таких як зволожуючі або емульгуючі агенти, консерванти або буфери, які підвищують термін придатності при зберіганні або ефективність даного антитіла.

Агоністи антитіла проти CD40 згідно з винаходом і композицію, що включає їх, можна вводити в поєднанні з одним або декількома іншими терапевтичними, діагностичними або профілактичними агентами. Додаткові терапевтичні агенти включають в себе інші антибластомні, протиракові, антиагніогенні або хіміотерапевтичні агенти. Такі додаткові агенти можуть бути включені в одну композицію або можуть бути введені роздільно. У деяких варіантах здійснення даного винаходу один або декілька агоністів антитіла проти CD40 згідно з винаходом можуть використовуватися як вакцина або як ад'юванти до вакцини.

Композиції згідно з винаходом можуть бути різноманітними за формою, наприклад, рідкими, напіврідкими і твердими дозованими формами, такими як рідкі розчини (наприклад, ін'єкційні і інфузійні розчини), дисперсії або суспензії, таблетки, пілюлі, порошки, ліпосоми або свічки. Переважна форма залежить від передбачуваного режиму введення і терапевтичного застосування. Типові переважні композиції представлені в формі ін'єкційних або інфузійних розчинів, таких як композиції, аналогічні композиціям для пасивної імунізації людини. Переважним режимом введення є парентеральний (наприклад, внутрішньовенний, підшкірний, внутрішньочеревинний, внутрішньом'язовий). У переважному варіанті здійснення даного винаходу дане антитіло вводять шляхом внутрішньовенного вливання або внутрішньовенної ін'єкції. В іншому переважному варіанті здійснення даного винаходу дане антитіло вводять шляхом внутрішньом'язової або підшкірної ін'єкції.

Як правило, терапевтичні композиції повинні бути стерильними і стабільними в умовах виготовлення і зберігання. Дану композицію можна створити у вигляді розчину, мікроемульсії, дисперсії, ліпосоми, або іншої впорядкованої структури, придатної для висококонцентрованого лікарського засобу. Стерильні ін'єкційні розчини можна отримати шляхом включення антитіла до CD40 в необхідній кількості у відповідний розчинник з одним або, за необхідності, з поєднанням перелічених вище інгредієнтів з подальшою стерилізацією фі-

льтруванням. В основному, дисперсії готують шляхом включення даної активної сполуки в стерильний наповнювач, який містить лужне дисперсійне середовище і необхідні інші інгредієнти з перелічених вище інгредієнтів. Що стосується стерильних порошків для приготування стерильних ін'єкційних розчинів, переважні способи їх отримання представлені вакуумною сушкою і заморожуванням-відтаванням, що дає не тільки активний порошкоподібний інгредієнт, але і будь-який необхідний додатковий інгредієнт з його раніше стерилізованого фільтруванням розчину. Належну текучість розчину можна зберегти, наприклад, шляхом нанесення шару, такого як лецитин, шляхом підтримки розміру часток, що стосується дисперсії, і шляхом використання поверхнево-активних сполук. Поглинання ін'єкційних композицій можна пролонгувати шляхом включення в дану композицію агента, затримуючого поглинання, наприклад, солей моностеарату і желатину.

Антитіла даного винаходу можна вводити різноманітними способами, відомими в даній галузі, хоча для багатьох терапевтичних застосувань переважним шляхом/способом введення є підшкірне, внутрішньом'язове або внутрішньовенне вливання. Кваліфікованим молодшим фахівцям потрібно мати на увазі, що шлях і/або спосіб введення варіює в залежності від бажаних результатів.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу, композиції антитіл активної сполуки можна приготувати з носієм, який захищає дане антитіло від швидкого вивільнення, таким носієм, який контролює вивільнення композиції, в тому числі, імпланти, кризьшкірні патчі, і мікроінкапсульовані системи доставки. Можна використати розсмоктувані, біосумісні полімери, такі як етиленвінілацетат, поліангідриди, полігліколеву кислоту, колаген, ефіри жирних ортокислот і багатоатомних спиртів, і полімолочну кислоту. Багато які способи отримання таких композицій запатентовані і, як правило, відомі фахівцям в даній галузі. [Див., наприклад, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems (Тривале і контрольоване вивільнення систем доставки лікарських засобів) (J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978)].

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло проти CD40 згідно з винаходом можна вводити перорально, наприклад, разом з інертним розріджувачем або харчовим носієм, що засвоюється. Дану сполуку (і, за необхідності, інші інгредієнти) можна також взяти в капсулу з твердої або м'якої желатинової оболонки, запресувати в таблетки, або включити безпосередньо в дієту пацієнта. Для перорального терапевтичного введення антитіло до CD40 можна включити разом з наповнювачами і використати в формі таблеток, що проковтуються, захисних таблеток, пастилок, капсул, еліксирів, суспензій, сиропів, облаток і тому подібного. Для введення сполуки даного винаходу парентеральним шляхом введення може виникнути потреба покрити дану сполуку або ввести дану сполуку спільно з речовиною, що захищає її від інактивації.

У дані композиції можна також включити додаткові активні сполуки. У деяких варіантах здійс-

нення даного винаходу антитіло до CD40 даного винаходу складають спільно і/або вводять спільно з одним або декількома додатковими терапевтичними агентами. Дані агенти включають, без обмеження, антитіла, які зв'язують інші мішені (наприклад, антитіла, такі як антитіла до CTL4, які зв'язують один або декілька ростових факторів або цитокінів з їх рецепторами на клітинній поверхні), антибластомні засоби, протиопухлинні агенти, хіміотерапевтичні агенти, пептидні аналоги, які активують CD40, розчинний CD40L, один або декілька хімічних агентів, які активують CD40, і/або інші агенти, відомі в даній галузі, які посилюють імунну відповідь проти клітин злоякісної пухлини, наприклад, IFN- $\beta$ 1, IL-2, IL-8, EL-12, IL-15, IL-18, IL-23, IFN- $\gamma$  і GM-CSF. При такому комбінованому лікуванні можуть знадобитися більш низькі дози антитіла до CD40, а також агентів, що спільно вводяться, з тим, щоб виключити можливий токсикоз або ускладнення, пов'язаний з тією або іншою монотерапією.

Агоністи антитіла проти CD40 згідно з винаходом і композицію, що включає їх, також можна вводити в поєднанні з іншими лікувальними режимами, зокрема, в поєднанні з радіаційним лікуванням.

Композиції згідно з винаходом можуть включати в себе "терапевтично ефективну кількість" або "профілактично ефективну кількість" антитіла або його антигензв'язувальної частини згідно з винаходом. "Терапевтично ефективна кількість" відноситься до ефективної кількості для досягнення необхідного терапевтичного результату в необхідних дозах і протягом необхідних інтервалів часу. Терапевтично ефективна кількість даного антитіла або частини антитіла може змінюватися відповідно до таких чинників як стан хворого, вік, стать і маса тіла даного пацієнта, а також здатності антитіла або частин антитіла викликати необхідну відповідь у пацієнта. Терапевтично ефективна кількість являє собою також кількість, при якій токсичний або ефект, що наносить шкоду, даного антитіла або частини антитіла переважається терапевтично позитивними наслідками. "Профілактично ефективна кількість" відноситься до ефективної кількості для досягнення необхідного профілактичного результату в необхідних дозах і протягом необхідних інтервалів часу. Як правило, оскільки профілактичну дозу використовують у пацієнтів перед захворюванням або на ранній стадії захворювання, ця профілактично ефективна кількість повинна бути меншою терапевтично ефективної кількості.

Режим дозування можна встановити для створення оптимальної потрібної відповіді (наприклад, терапевтичної або профілактичної відповіді). Наприклад, можна ввести єдиний болюс, можна вводити розділені загальні дози тривалий час, або ж дану дозу можна пропорційно знижувати або підвищувати, в залежності від терапевтичної ситуації, що складається. Особливо корисно складати парентеральні композиції в стандартній дозованій формі для зручності введення і одноманітності дозування. Тут стандартна використовується дозована форма відноситься до фізичних дискретних одиниць, придатних як уніфіковані дози для ліку-

вання представників ссавців; кожну одиницю, що містить заздалегідь встановлену кількість активної сполуки спільно з необхідним терапевтичним носієм, розраховують для отримання необхідного терапевтичного ефекту. Інструкція для стандартних дозованих лікарських форм даного винаходу продиктована і прямо залежить від (а) унікальних характеристик антитіла до CD40 або його частини і від досягнення конкретного терапевтичного або профілактичного ефекту, і (b) властивих в даній галузі обмежень рецептури такого антитіла для лікування сприйнятливих до нього пацієнтів.

Необмежувачий діапазон для терапевтично або профілактично ефективною кількості антитіла або частини антитіла даного винаходу становить, приблизно, 0,025-50мг/кг, більш переважно 0,1-50мг/кг, ще більш переважно 0,1-25, 0,1-10 або 0,1-3мг/кг. Потрібно зазначити, що величини доз можуть змінюватися від виду і тяжкості стану, який намагаються полегшити. Крім того, потрібно мати на увазі, що відносно будь-якого конкретного пацієнта необхідний тривалий час здійснювати індивідуальний режим дозування відповідно до потреби в ньому, а також відповідно до професійного розсуду фахівця, що вводить або контролює введення даних композицій, і що викладені тут діапазони дозування є лише ілюстративними і не призначені для обмеження об'єму або застосування заявленої композиції.

Інша мета даного винаходу полягає в створенні наборів, що містять антитіло до CD40 або частину антитіла згідно з винаходом, або композицію, що містить таке антитіло. Набір може включати, крім даного антитіла або композиції, діагностичні або терапевтичні агенти. Набір може також містити інструкції для використання діагностичного або терапевтичного способу. У переважному варіанті здійснення даного винаходу набір включає в себе антитіло або композицію, що включає його, і діагностичний агент, який можна використати в описаному нижче способі. В іншому переважному варіанті здійснення даного винаходу, набір включає в себе антитіло або композицію, що включає його, і один або декілька терапевтичних агентів, які можна використати в описаному нижче способі.

Даний винахід відноситься також до композицій для інгібування у ссавця росту аномальної клітини, що включають в себе будь-яку кількість будь-якого антитіла згідно з винаходом в поєднанні з будь-якою кількістю хімотерапевтичного агента, в яких визначені кількості сполуки, солі, сольову або проліків і хімотерапевтичного агента спільно є ефективними для інгібування росту аномальної клітини. У цей час в даній галузі відома безліч хімотерапевтичних агентів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу хімотерапевтичний агент вибраний з групи, що складається з інгібіторів мітозу, алкілюючих агентів, антиметаболітів, інтеркалюючих антибіотиків, інгібіторів фактора росту, інгібіторів клітинного циклу, ферментів, інгібіторів топоізомери, модифікаторів біологічної реакції, антигормонів, наприклад, антиандрогенів, і антиангіогенних агентів.

Антиангіогенні агенти, такі як інгібітори MMP-2 (матриксна металопротеїназа 2), інгібітори MMP-9

(матриксная металопротеїназа 9) і інгібітори COX-II (циклооксигеназа II), можуть використовуватися в поєднанні з антитілом до CD40 згідно з винаходом. Приклади COX-II-інгібіторів, що використовуються включають в себе CELEBREX™ (алекоксиб), валдекоксиб і рофекоксиб. Приклади інгібіторів матриксних металопротеїназ, що використовуються, описані в [Міжнародній Публікації WO 96/33172 (опублікованій 24 жовтня 1996р.), WO 96/27583 (опублікованій 7 березня 1996р.), в Європейській Патентній Заявці №97304971.1 (поданій 8 липня 1997р.), в Європейській Патентній Заявці №99308617.2 (поданій 29 жовтня 1999р.), в Міжнародній Публікації WO 98/07697 (опублікованій 26 лютого 1998р.), WO 98/03516 (опублікованій 29 січня 1998р.), WO 98/34918 (опублікованій 13 серпня 1998р.), WO 98/34915 (опублікованій 13 серпня 1998р.), WO 98/33768 (опублікованій 6 серпня 1998р.), WO 98/30566 (опублікованій 16 липня 1998р.), в Європейській Патентній Публікації 606046 (опублікованій 13 липня 1994р.), в Європейській Патентній Публікації 931788 (опублікованій 28 липня 1999р.), WO 90/05719 (опублікованій 31 травня 1990р.), WO 99/52910 (опублікованій 21 жовтня 1999р.), WO 99/52889 (опублікованій 21 жовтня 1999р.), WO 99/29667 (опублікованій 17 червня 1999р.), Міжнародній Заявці РСТ №PCT/1B98/01113 (поданій 21 липня 1998р.), в Європейській Патентній Заявці №99302232.1 (поданій 25 березня 1999р.), в патентній заявці Великобританії за номером 9912961.1 (поданій 3 червня 1999р.), в Попередній Заявці США №60/148464 (поданій 12 серпня 1999р.), Патенті США №5863949 (виданому 26 січня 1999р.), Патенті США №5861510 (опублікованому 19 січня 1999р.), і в Європейській Патентній Публікації 780386 (опублікованій 25 червня 1997р.)], які всі включені тут в їх повноті шляхом посилання. Переважні MMP-інгібітори являють собою інгібітори, які не викликають артралгії. Більш переважними є інгібітори, які виборче інгібують MMP-2 і/або MMP-9, в порівнянні з іншими матриксними металопротеїназами (тобто MMP-1, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP-7, MMP-8, MMP-10, MMP-11, MMP-12 і MMP-13). Деякі конкретні приклади MMP-інгібіторів, що використовуються в даному винаході, являють собою AG-3340, RO 32-3555, RS 13-0830, а дані сполуки повторно перераховані в нижченаведеному списку: 3-[[4-(4-фторфенокси)-бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоїлциклопентил)аміно]-пропіонова кислота; 3-екзо-3-[4-(4-фторфенокси)-бензолсульфоніламіно]-8-окса-біцикло[3.2.1]октан-3-карбонової кислоти гідроксамід; (2R,3R)-1-[4-(2-хлор-4-фторбензилокси)-бензолсульфоніл]-3-гідрокси-3-метилпіперидин-2-карбонової кислоти гідроксамід; 4-[4-(4-фторфенокси)-бензолсульфоніламіно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти гідроксамід; 3-[[4-(4-фторфенокси)-бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоїлциклобутил)аміно]-пропіонова кислота; 4-[4-(4-хлорфенокси)-бензолсульфоніламіно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти гідроксамід; (R)3-[4-(4-хлорфенокси)-бензолсульфоніламіно]-

тетрагідропіран-3-карбонової кислоти гідроксіамід; (2R,3R)1-[4-(4-фторо-2-метилбензилокси)-бензолсульфоніл]-3-гідрокси-3-метилпіперидин-2-карбонової кислоти гідроксіамід; 3-[[4-(4-фторфенокси)-бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоїл-1-метилетил)-аміно]-пропіонова кислота; 3-[[4-(4-фторфенокси)-бензолсульфоніл]-(4-гідроксикарбамоїл-тетрагідропіран-4-іл)-аміно]-пропіонова кислота; 3-екзо-3-[4-(4-хлорфенокси)-бензолсульфоніламіно]-8-окса-біцикло[3.2.1]октан-3-карбонової кислоти гідроксіамід; 3-ендо-3-[4-(4-фторфенокси)-бензолсульфоніламіно]-8-окса-біцикло[3.2.1]октан-3-карбонової кислоти гідроксіамід; і (R)3-[4-(4-фторфенокси)-бензолсульфоніламіно]-тетрагідрофуран-3-карбонової кислоти гідроксіамід; а також фармацевтично прийнятні солі і сольвати вказаних сполук.

Сполуки згідно з винаходом можна також використати спільно з інгібіторами трансдукції сигналу, такими як агенти, що інгібують EGF-R (рецептор епідермального фактора росту), такі як EGF-R-антитіла, EGF-антитіла, і молекули, які є EGF-R-інгібіторами, VEGF-інгібіторами (фактора росту судинного ендотелію), такими як VEGF-рецептори, і молекули, які можуть інгібувати VEGF; і інгібіторами рецептора erbB2, такими як органічні молекули або антитіла, які зв'язуються з рецептором erbB2, наприклад, HERCEPTINTM (Genentech, Inc.). EGF-R-інгібітори описані, наприклад, в [WO 95/19970 (опублікованій 27 липня 1995р.), WO 98/14451 (опублікованій 9 квітня 1998р.), WO 98/02434 (опублікованій 22 січня 1998р.), і в Патенті США №5747498 (виданий 5 травня 1998р.)], і такі речовини можуть використовуватися в даному винаході, який описується тут. EGFR-інгібуючі агенти включають в себе, але не обмежуючись цим, моноклональні антитіла C225 і анти-EGFR 22МонАТ (ImClone Systems Incorporated), ABX-EGF (Abgenix/Cell Genesys), EMD-7200 (Merck KgaA), EMD-5590 (Merck KgaA), MDX-447/H-477 (Medarex Inc. and Merck KgaA), і сполуки ZD-1834, ZD-1838 і ZD-1839 (AstraZeneca), PKI-166 (Novartis), PKI-166/CGP-75166 (Novartis), PTK 787 (Novartis), CP 701 (Cephalon), leflunomide (Pharmacia/Sugen), CI-1033 (Warner Lambert Parke Davis), CI-1033/PD 183805 (Warner Lambert Parke Davis), CL-387785 (Wyeth-Ayerst), BBR-1611 (Boehringer Mannheim GmbH/Roche), Naamidine A (Bristol Myers Squibb), RC-3940-II (Pharmacia), BIBX-1382 (Boehringer Ingelheim), OX-103 (Merck & Co.), VRCTC-310 (Ventech Research), EGF-злитий токсин (Seragen Inc.), DAB-389 (Seragen/Lilgand), ZM-252808 (Imperial Cancer Research Fund), RG-50864 (INSERM), LFM-A12 (Parker Hughes Cancer Center), WHIPS? (Parker Hughes Cancer Center), GW-282974 (Glaxo), KT-8391 (Kyowa Hakko) і EGF-R-вакцина (York Medical/Centro de Immunologia Molecular (CIM)). Ці і інші EGF-R-інгібуючі агенти можуть використовуватися в даному винаході.

VEGF-інгібітори, наприклад, SU-5416 і SU-6668 (Sugen Inc.), SH-268 (Schering), і NX-183 8 (NeXstar) можна також поєднувати із сполукою згідно з винаходом. VEGF-інгібітори описані, на-

приклад, в [WO 99/24440 (опублікованій 20 травня 1999р.), Міжнародній Заявці РСТ РСТ/IB99/00797 (поданий 3 травня 1999р.), в WO 95/21613 (опублікованій 17 серпня 1995р.), WO 99/61422 (опублікованій 2 грудня 1999р.), Патенті США №5834504 (опублікованому 10 листопада 1998р.), WO 98/50356 (опублікованій 12 листопада 1998р.), Патенті США №5883113 (опублікованому 16 березня 1999р.), Патенті США №5886020 (опублікованому 23 березня 1999р.), Патенті США №5792783 (опублікованому 11 серпня 1998р.), WO 99/10349 (опублікованій 4 березня 1999р.), WO 97/32856 (опублікованій 12 вересня 1997р.), WO 97/22596 (опублікованій 26 червня 1997р.), WO 98/54093 (опублікованій 3 грудня 1998р.), WO 98/02438 (опублікованій 22 січня 1998р.), WO 99/16755 (опублікованій 8 квітня 1999р.), і WO 98/02437 (опублікованій 22 січня 1998р.)], які всі включені тут в їх повноті шляхом посилання. Інші приклади деяких специфічних VEGF-інгібіторів, що використовуються в даному винаході, являють собою IM862 (Cytran Inc.); моноклональне антитіло до VEGF від Genentech Inc.; і ангіозим, синтетичний рибозим від Ribozyme and Chiron. Ці і інші VEGF-інгібітори можна використати в даному винаході, як тут описано. Інгібітори рецептора ErbB2, такі як GW-282971 (Glaxo Wellcome pic), і моноклональні антитіла AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc.) і 2B-1 (Chiron), можна, крім того, об'єднати із сполукою даного винаходу, і які, наприклад, розглядаються в [WO 98/02434 (опублікованій 22 січня 1998р.), WO 99/35146 (опублікованій 15 липня 1999р.), WO 99/35132 (опублікованій 15 липня 1999р.), WO 98/02437 (опублікованій 22 січня 1998р.), WO 97/13760 (опублікованій 17 квітня 1997р.), WO 95/19970 (опублікованій 27 липня 1995р.), Патенті США №5587458 (опублікованому 24 грудня 1996р.), і Патенті США №5877305 (опублікованому 2 березня 1999р.)], які теперішнім часом все включені тут в їх повноті шляхом посилання. Інгібітори рецептора ErbB2 описані також в Попередній [Заявці США №60/117341, поданий 27 січня 1999р.], і в Попередній [Заявці США №60/117346, поданий 27 січня 1999р.], обидві з яких включені тут в їх повноті шляхом посилання. Відповідно до даного винаходу, сполуки, що інгібують рецептор erbB2, і речовина, описана у вищезазначених РСТ заявках, патентах США і попередніх заявках США, а також інші сполуки і речовини, які інгібують рецептор erbB2, можна використати спільно із сполукою згідно з винаходом.

Агенти, пов'язані з виживаністю, включають в себе анти-IGF-IR-антитіла і антиінтегринові агенти, такі як антиінтегринові антитіла.

Застосування діагностичних способів

Крім того, в даному винаході розроблені діагностичні способи. Антитіла до CD40 можна використати для виявлення CD40 в біологічному зразку in vitro або in vivo. В одному з варіантів здійснення даного винаходу розроблений спосіб діагностування присутності або місцезнаходження у пацієнта, потребуючого діагностування, пухлини, що експресує CD40, який включає в себе стадії ін'єктування даного антитіла даному пацієнту, визначення експресії у даного пацієнта CD40 шляхом

локалізації місця виявлення антитіла, експресії у даного пацієнта з експресією у нормального контрольного індивіда або з еталонною експресією, і діагностування присутності або місцеположення пухлини.

Антитіла до CD40 можна використати в традиційному імунологічному аналізі, включаючи, без обмеження, ІФА, РІА, FACS, тканинну імуногістохімію, Вестерн-блот або імунопреципітацію. Антитіла до CD40 згідно з винаходом можна використати для виявлення CD40 у людини. В іншому варіанті здійснення даного винаходу антитіла до CD40 можна використати для виявлення CD40 у мавп Старого Світу, таких як *symorigus* і *резус-макак*, шимпанзе і людиноподібних мавп. У даному винаході розроблений спосіб детекції CD40 в біологічному зразку, що включає в себе контактування біологічного зразка з антитілом до CD40 згідно з винаходом і детектування антитіла, що зв'язалося. В одному з варіантів здійснення даного винаходу антитіло до CD40 безпосередньо мітять детектованою міткою. В іншому варіанті здійснення даного винаходу антитіло до CD40 (перше антитіло) є неміченим, а друге антитіло або іншу молекулу, яка може зв'язатися з анти-CD40-антитілом, мітять. Фахівцям в даній галузі добре відомо, що друге антитіло вибирають таким чином, щоб воно було здатне специфічно зв'язати конкретні види і клас першого антитіла. Наприклад, якщо антитіло до CD40 являє собою IgG людини, то вторинне антитіло може являти собою антитіло до IgG людини. Інші молекули, які можуть зв'язуватися з антитілами, включають в себе, без обмеження, Білок А і Білок G, обидва з яких комерційно доступні, наприклад, від Pierce Chemical Co.

Відповідні мітки для даного антитіла або вторинного антитіла розкриті вище і включають в себе різні ферменти, простетичні групи, флуоресцентні речовини, люмінесцентні речовини і радіоактивні речовини. Приклади відповідних ферментів включають в себе пероксидазу хрому, лужну фосфатазу,  $\beta$ -галактозидазу або ацетилхолінестеразу; приклади відповідних складних простетичних груп включають в себе стрептавідин/біотин і авідин/біотин; приклади відповідних флуоресцентних речовин включають умбеліферон, флуоресцеїн, флуоресцеїнізотіоціанат, родамін, дихлортриазиніламінофлуоресцеїн, дансилхлорид або фікоеретрин; приклад люмінесцентної речовини включає в себе люмінол; а приклади відповідних радіоактивних речовин включають в себе  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$  або  $^3\text{H}$ .

В інших варіантах здійснення даного винаходу присутність CD40 в біологічному зразку можна встановити за допомогою конкурентного імуноаналізу, що використовує CD40-стандарти, помічені детектованою речовиною, і немічене антитіло до CD40. У даному аналізі біологічний зразок, мічений CD40-стандартами і антитілом до CD40, об'єднують і визначають кількість міченого CD40-стандарту, що зв'язався з даним неміченим антитілом. Кількість CD40 в даному біологічному зразку зворотно пропорційна кількості міченого CD40-стандарту, що зв'язався з антитілом до CD40.

Описаний вище аналіз можна використати для ряду цілей. Наприклад, антитіла до CD40 можна

використати для виявлення CD40 в клітинах культури клітин. У переважному варіанті здійснення даного винаходу антитіла до CD40 використовують, щоб визначити кількість CD40 на поверхні клітин, які обробляють різними сполуками. Даний спосіб можна застосовувати при ідентифікації сполук, які використовують для активування або інгібування CD40. Відповідно до даного способу, один зразок клітин обробляють тест-сполукою протягом якогось періоду часу, а інший зразок залишають необробленим. При вимірюванні загального рівня CD40 ці клітини лізують, і загальний рівень CD40 вимірюють з використанням одного з описаних вище імуноаналізів. Для визначення ефекту даної тест-сполуки порівнюють загальний рівень CD40 в оброблених і необроблених клітинах.

Переважним імуноаналізом для вимірювання загального рівня CD40 є ІФА або Вестерн-блот. При вимірюванні рівня CD40 на поверхні клітини клітини, що аналізуються, не лізують, і рівень CD40 на поверхні даних клітин вимірюють з використанням одного з описаних вище імуноаналізів. Переважний імуноаналіз для визначення рівня CD40 на поверхні клітин включає в себе стадії мічення білків на поверхні клітини за допомогою детектованої мітки, такої як біотин або  $^{125}\text{I}$ , імунопреципітації CD40 з антитілом до CD40 і подальшого детектування міченого CD40. Інший переважний імуноаналіз для визначення локалізації рівня CD40, наприклад, на клітинній поверхні, здійснюють з використанням імуногістохімії. Способи, такі як ІФА, РІА, Вестерн-блотинг, імуногістохімічні способи, способи мічення інтегральних мембранних білків клітинної поверхні і імунопреципітація, добре відомі в даній галузі. Див., наприклад, Harlow and Lane, вище. Крім того, перераховані імуноаналізи можна масштабувати для високопродуктивного скринингування з метою тестування великого числа сполук відносно активації або інгібування CD40.

Антитіла до CD40 згідно з винаходом можна також використовувати для визначення рівня CD40 в тканині або в клітинах, отриманих з даної тканини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу тканина являє собою хвору тканину. У деяких варіантах здійснення даного винаходу тканина являє собою пухлину або її біоптат. У деяких варіантах здійснення даного способу тканину або її біоптат вирізають у пацієнта. Потім хвору тканину або біоптат використовують в імуноаналізі для визначення, наприклад, загального рівня CD40, рівня CD40 на поверхні клітини, або для локалізації CD40 описаними вище способами.

Описаний вище діагностичний спосіб можна використати для визначення того, чи експресує пухлина високі рівні CD40, що могло б свідчити про те, що пухлина являє собою мішень для обробки антитілами до CD40. Далі, цей же спосіб можна також використати, щоб прослідити ефект лікування антитілом до CD40, детектуючи загибель клітин в пухлині. Цей діагностичний спосіб можна також використати, щоб визначити, чи експресує тканина або клітина недостатній рівень CD40 або активований CD40 і, отже, чи є кандидатом для лікування активуючими антитілами до CD40,

CD40L і/або іншими терапевтичними агентами з метою підвищення рівня CD40 або його активності.

Антитіла згідно з винаходом можна також використати *in vivo* для ідентифікації тканин і органів, які експресують CD40. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіла до CD40 використовують для ідентифікації пухлин, що експресують CD40. Одна з переваг використання антитіл людини до CD40 згідно з винаходом полягає в тому, що їх можна, не побоюючись, використовувати *in vivo*, не викликаючи імунну реакцію на дане антитіло після його введення, на відміну від антитіл, що виробляються не людським організмом, або гуманізованих антитіл.

Даний спосіб включає в себе стадії введення детектованих мічених антитіл до CD40 або композиції, що включає їх, пацієнту, потребуючому такого діагностичного тесту, і аналіз зображення для визначення у пацієнта місцеположення тканин, які експресують CD40. Аналіз зображення добре відомий в медичній галузі і включає в себе, без обмеження перерахованим, рентгенографічний аналіз, магнітно-резонансну томографію (MPT) або комп'ютерну томографію (CE). Дане антитіло можна помітити за допомогою будь-якого агента, відповідного для *in vivo*-зображення, наприклад, контрастного агента, такого як барій, який може використовуватися в рентгенографічному аналізі, або магнітної контрастної речовини, такої як хелат гадолінію, який можна використати в MPT або CE. Інші речовини-мітки включають в себе, не обмежуючись цим, радіоізотопи, такі як  $^{90}\text{Tc}$ . В іншому варіанті здійснення даного винаходу антитіло до CD40 повинно бути неміченим і повинно візуалізуватися після введення другого антитіла або іншої молекули, яка детектується і яка може зв'язати дане антитіло до CD40. У варіанті здійснення даного винаходу біоптат отримують від пацієнта, щоб визначити, чи експресує CD40 тканина, що представляє інтерес.

Застосування терапевтичних способів

Крім того, в даному винаході розроблені терапевтичні способи, що використовують антитіло проти CD40 згідно з винаходом.

Агоніст антитіла людини проти CD40 згідно з винаходом можна ввести людині або ссавцеві, що не належить до людського роду, які експресують перехресно реагуючий CD40. Дане антитіло можна ввести такому ссавцеві, що не належить до людського роду, (тобто примату, *suptomolgus* або *резус-макаці*) з ветеринарними цілями або ж як вивчення його дії на тваринній моделі захворювання людини. Такі модельні тварини корисні для оцінки терапевтичної ефективності антитіл даного винаходу.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу дане антитіло до CD40 вводять пацієнту, який страждає від первинного і/або комбінованого імунodefіцитів, в тому числі, CD40-залежного імунodefіциту з синдромом гіперсекреції IgM, загально-го варіабельного імунodefіциту, агаммаглобулінемії Брутона (Bruton), дефіциту субкласу IgG і X-зчепленого SCID (загальні мутації гамма-ланцюга). У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 вводять для

лікування пацієнта, який імуносупресивний, наприклад, внаслідок хіміотерапії, або володіє імуносупресивним захворюванням, в тому числі, захворюванням набутого імунodefіциту, таким як ВІЛ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 вводять, щоб підвищити імунітет пацієнта похилого віку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 вводять для лікування пацієнта, який має бактерійну, вірусну, грибкову або паразитарну інфекцію. У деяких варіантах здійснення даного винаходу агоніст антитіла людини проти CD40 згідно з винаходом можна профілактично вводити пацієнту, який, внаслідок віку, нездоров'я або загального слабого здоров'я схильний до інфікування, щоб попередити або зменшити число або тяжкість інфекцій.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 вводять пацієнту, який має гіперпроліферативне порушенням.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 вводять для лікування пацієнту, який має пухлину. В інших варіантах здійснення даного винаходу пухлина є CD40-позитивною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пухлина є CD40-негативною. Пухлина може являти собою солідну або несолідну пухлину, таку як лімфома. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 вводять пацієнту, який має пухлину, що є раковою. У деяких варіантах здійснення даного винаходу дане антитіло інгібує проліферацію ракової клітини, придушує або запобігає збільшенню маси пухлини або її об'єму, і/або спричиняє зменшення маси пухлини або її об'єму.

Пацієнти, яких можна лікувати за допомогою антитіл до CD40 або ділянками антитіла даного винаходу, включають, але не обмежуються, пацієнтів, у яких діагностують наявність злоякісної пухлини головного мозку, злоякісної пухлини легень, злоякісної пухлини кістки, злоякісної пухлини підшлункової залози, раку шкіри, злоякісної пухлини голови і шиї, меланоми шкіри або внутрішньоочної меланоми, злоякісної пухлини матки, злоякісної пухлини яєчника, злоякісної пухлини прямої кишки, злоякісної пухлини анальної ділянки, злоякісної пухлини шлунка, шлункової злоякісної пухлини, колоректальної злоякісної пухлини, злоякісної пухлини ободової кишки, злоякісної пухлини молочної залози, гінекологічної злоякісної пухлини (наприклад, маточні саркоми, карцинома фалопієвої труби, карцинома ендометрію, карцинома шийки матки, карцинома піхви або карцинома вульви), злоякісної пухлини стравоходу, злоякісної пухлини тонкого кишечника, злоякісної пухлини ендокринної системи (наприклад, злоякісна пухлина щитовидної, паращитовидної або надниркової залози), сарком м'яких тканин, лейкозу, міеломи, множинної міеломи, злоякісної пухлини уретри, злоякісної пухлини пенісу, злоякісної пухлини передміхурової залози, хронічного або гострого лейкозу, дитячих злоякісних пухлин, хвороби Ходжкіна, лімфоцитарних лімфом, неходжкінської лімфоми, злоякісної пухлини сечового міхура, злоякісної пухлини печінки, ниркової злоякісної пухлини, злоякісної пухлини нирки або сечоводу (наприклад, гіпернефроїд-

ний рак, злоякісна пухлина ниркової миски), або новоутворень центральної нервової системи (наприклад, первинна лімфома ЦНС, злоякісні пухлини хребетного стовпа, гліоми стовбура мозку або аденома гіпофіза), гліоми або фібросаркоми.

Дане антитіло можна вводити від трьох разів щодня до одного разу кожні шість місяців і, переважно, можна вводити через рот, слизову, защічно, інтраназально, вдиханням, внутрішньовенно, підшкірно, внутрішньом'язово, парентерально, внутрішньопухлинно, черезшкірно або місцево. Дане антитіло можна також вводити безперервно за допомогою мікронасосу. Як правило, дане антитіло потрібно вводити доти, поки дана пухлина присутня, і за умови, що дане антитіло приводить до зупинки росту пухлини або раку або до зменшення її (його) маси або об'єму. Як правило, дозування антитіла коливається в діапазоні від 0,025 до 50мг/кг, більш переважно 0,1-50мг/кг, більш переважно 0,1-20мг/кг, 0,1-10мг/кг, 0,1-5мг/кг або ще більш переважно 0,1-2мг/кг. Дане антитіло можна також вводити профілактично.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу дане антитіло до CD40 вводять у вигляді елемента лікувальної схеми, яка включає введення пацієнту, який має гіперпроліферативне порушення, таке як рак або пухлина, одного або декількох додаткових протипухлинних лікарських засобів або молекул. Типові протипухлинні агенти включають, але не обмежуються, інгібітори мітозу, алкілюючі агенти, антиметаболіти, інтеркалюючі агенти, інгібітори фактора росту, інгібітори клітинного циклу, ферменти, інгібітори топоізомерази, модифікатори біологічної відповіді, антигормони, кіназні інгібітори, інгібітори матричної металопротеїнази, генетичні терапевтичні агенти і антиандрогени. У більш переважних варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 вводять разом з протипухлинним агентом, таким як адриаміцин або таксол. У деяких переважних варіантах здійснення даного винаходу терапію проти CD40 здійснюють разом з радіотерапією, хіміотерапією, фототерапією, хірургією або іншою імунотерапією. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 вводять разом з одним або декількома додатковими антитілами. Наприклад, антитіло до CD40 можна вводити разом з антитілами, про які відомо, що вони інгібують клітинну проліферацію пухлини або раку. Такі антитіла включають, але не обмежуються, антитіло, яке інгібує CTLA4, рецептор erbB2, EGF-R, IGF-1R, CD20 або VEGF.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 мітять за допомогою радіоактивної мітки, імунотоксину або токсину, або злитим білком, що містить токсичний пептид. Антитіло до CD40 або антитіло до CD40-злитий білок направляє радіоактивну мітку, імунотоксин, токсин або токсичний пептид до клітини пухлини або до ракової клітини. У переважному варіанті здійснення даного винаходу дана радіоактивна мітка, імунотоксин, токсин або токсичний пептид інтерналізується клітиною пухлини або раковою клітиною після зв'язування антитіла до CD40 з CD40 на поверхні шуканої клітини.

Крім того, антитіло до CD40 можна використа-

ти терапевтично для індукції у пацієнта апоптозу конкретних клітин. У багатьох випадках клітини, мишені для апоптозу, являють собою ракові клітини або клітини пухлини. Таким чином, в даному винаході розроблений спосіб індукції апоптозу шляхом введення пацієнту антитіла до CD40, потребуючого нього.

Крім того, в даному винаході розроблений спосіб введення пацієнту активуючого антитіла до CD40 для збільшення CD40-активності. Антитіло до CD40 вводять разом з одним або декількома іншими факторами, які збільшують CD40-активність. Такі фактори включають CD40L, і/або аналоги CD40L, які активують CD40.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло до CD40 вводять разом з одним або декількома додатковими імунними посилюючими агентами, в тому числі, без обмеження, IFN- $\beta$ 1, IL-2, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18, IL-23, IFN- $\gamma$  і GM-CSF.

У деяких варіантах здійснення згідно з винаходом агоніст антитіла людини проти CD40 використовують як ад'ювант для підвищення ефективності вакцини. При використанні даним чином, антитіло проти антитіла до CD40 активує CD40 в антигенпрезентуючих клітинах, в тому числі, в В-клітинах, дендритних клітинах і в моноцитах, а також посилює утворення імунотоксичних молекул, таких як цитокіни і хемокини. Імуностимуляторна дія даного антитіла посилює імунну реакцію вакцинованого пацієнта до вакцинного антигену.

Крім того, в даному винаході розроблений спосіб отримання дендритноклетинної вакцини для ракових клітин або для імунотерапії дендритних клітин. Відповідно до даного способу дендритні клітини ракового хворого культивують протягом 1-5 днів з лізатом або гомогенатом пухлини, з клітинами пухлини, вбитими опроміненням або за допомогою інших засобів, або з допомогою пухлиноспецифічних антигенів (наприклад, пептидів, ідіотипів), а також за допомогою 1-10мкг/мл антитіла до CD40. Навчені антигеном дендритні клітини реін'єктують даному пацієнту, щоб стимулювати протипухлинні імунні відповіді, зокрема протипухлинні CTL-відповіді. Для використання в даному способі моноцитні дендритні клітини можна отримати із зразка периферичної крові шляхом культивування в IL4 і GM-CSF. Дендритні клітини можна також отримати з кісткового мозку пацієнта шляхом виділення очищенням за допомогою магніту або сортуванням CD34-позитивних клітин, з подальшим культивуванням в IL-4 і GM-CSF.

#### Генна терапія

Молекули нуклеїнової кислоти даного винаходу можна вводити пацієнту, потребуючому цього, за допомогою генної терапії. Генну терапію можна здійснювати або *in vivo*, або *ex vivo*. У переважному варіанті здійснення даного винаходу пацієнту вводять молекули нуклеїнової кислоти, що кодують і важкий ланцюг, і легкий ланцюг. У більш переважному варіанті здійснення даного винаходу молекули нуклеїнової кислоти вводять таким чином, щоб вони стабільно інтегрувалися в хромосоми В-клітин, оскільки ці клітини спеціалізовані для утворення антитіл. У переважному варіанті здійснення даного винаходу попередники В-клітин



трансфікують або інфікують *ex vivo* і ретрансплантують потребувачу цього пацієнту. В іншому варіанті здійснення даного винаходу попередники В-клітин або інших клітин інфікують *in vivo*, використовуючи відомий вірус для зараження клітин певного типу, що представляють інтерес. Звичайні вектори, що використовуються для генної терапії, включають ліпосоми, плазмиди і вірусні вектори. Типові вірусні вектори являють собою ретровіруси, аденовіруси і аденоасційовані віруси. Після інфікування *in vivo* або *ex vivo*, відстежують рівень експресії антитіла в зразку, взятому у пацієнта, що піддається лікуванню, і використовують будь-який імуноаналіз, відомий в даній галузі або, що розглядається тут.

У переважному варіанті здійснення даного винаходу спосіб генної терапії, що пропонується, включає стадії введення виділеної молекули нуклеїнової кислоти, що кодує важкий ланцюг або його антигензв'язувальну частину антитіла до CD40, і експресування молекули нуклеїнової кислоти. В іншому варіанті здійснення даного винаходу спосіб генної терапії, що пропонується, включає стадії введення виділеної молекули нуклеїнової кислоти, що кодує легкий ланцюг або його антигензв'язувальну частину антитіла до CD40 і експресування молекули нуклеїнової кислоти. У більш переважному способі даний спосіб генної терапії включає стадії введення виділеної молекули нуклеїнової кислоти, що кодує важкий ланцюг або його антигензв'язувальну частину, і виділеної молекули нуклеїнової кислоти, що кодує легкий ланцюг або його антигензв'язувальну частину антитіла до CD40 даного винаходу, і експресування молекул нуклеїнової кислоти. Даний спосіб генної терапії може також включати стадію введення іншого протипухлинного агента, такого як таксол або адриаміцин.

Для того, щоб краще зрозуміти даний винахід, нижче наведені приклади. Ці приклади переслідують лише ілюстративні цілі і не розглядаються як будь-яке обмеження значення даного винаходу.

#### Приклад I

Створення гібридом, що продукують антитіло до CD40

Антитіла даного винаходу отримують, селектують і аналізують таким чином:

#### Імунізація і створення гібридами

Мишей XenoMice™ у віці вісім-десять тижнів імунізують внутрішньочеревинно або в подушечку задньої лапи або злитим білком CD40-IgG (10мкг/доза/миша) або клітинами 300.19-CD40, які являють собою лінію трансфікуючих клітин, які експресують CD40 людини на своїй плазматичній мембрані (10×106клітин/дозу/мишу). Введення даної дози повторюють п'ять-сім разів протягом трьох-восьми тижнів. За чотири дні до злиття мишам роблять заключну ін'єкцію позаклітинного домену CD40 людини в PBS. Здійснюють злиття лімфоцитів селезінки і лімфатичного вузла з імунізованих мишей з несекретуючою клітинною лінією мієломи P3-X63-Ag8.653, і піддають злиті клітини НАТ-селекції, як описано раніше [Galfre and Milstein, methods Enzymol. 73: 3-46, 1981]. Виділяють панель гібридом, які всі секретують CD40-

специфічні антитіла людини HgG2k. Відбирають одинадцять гібридом для подальшого дослідження і позначають їх 3.1.1, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.29.1 і 24.2.1.

Відповідно до Будапештського Договору, гібридами 3.1.1, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1 і 21.4.1 депонують в Американській Колекції Типових Культур (ATCC), 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, 6 серпня 2001р. Гібридами 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.29.1 і 24.2.1 депонують в ATCC 16 липня 2002р. Даним гібридам привласнені наступні реєстраційні номери:

Гібридома	№ реєстрації
3.1.1 (LN 15848)	PTA-3600
7.1.2 (LN 15849)	PTA-3601
10.8.3 (LN 15850)	PTA-3602
15.1.1 (LN 15851)	PTA-3603
21.4.1 (LN 15853)	PTA-3605
21.2.1 (LN 15874)	PTA-4549
22.1.1 (LN 15875)	PTA-4550
23.5.1 (LN 15855)	PTA-4548
23.25.1 (LN 15876)	PTA-4551
23.28.1 (LN 15877)	PTA-4552
23.29.1 (LN 15878)	PTA-4553
24.2.1 (LN 15879)	PTA-4554

Приклад II Послідовності антитіл до CD40, отримані у відповідності до даного винаходу

Для аналізу структури антитіл, отриманих відповідно до даного винаходу, клонують нуклеїнові кислоти, що кодують фрагменти важкого і легкого ланцюга гібридом, що продукують моноклональні антитіла до CD40. Клонування і секвенування здійснюють таким чином.

За допомогою набору Fast-Track (Invitrogen) виділяють Poly(A)<sup>+</sup> мРНК, приблизно з 2×10<sup>5</sup> гібридомних клітин, отриманих від мишей XenoMouse™, імунізованих CD40 людини, як описано в Прикладі I. Після чого за допомогою ПЛР отримують випадковим чином примовану кДНК. Використовують праймери з специфічних варіабельних ділянок V<sub>H</sub> людини або сімейства V<sub>k</sub> (Marks et al., "Oligonucleotide primers for polymerase chain reaction amplification of human immunoglobulin variable genes and design of family-specific Oligonucleotide probes" (Олігонуклеотидні праймери для ампліфікації імуноглобулінових варіабельних генів людини і створення специфічного сімейства олігонуклеотидних зондів за допомогою полімеразної ланцюгової реакції), [Eur. J. Immunol. 21: 985-991 (1991)] або універсальний праймер V<sub>H</sub> людини, MG-30, CAGGTGCAGCTGGAGCAGTCIGG (SEQ ID NO: 118), в поєднанні з праймерами, специфічними для константної ділянки C<sub>j</sub>2 людини, MG-40d, 5'-GCTGAGGGAGTAGAGTCCTGAGGA-31 (SEQ ID NO: 119), або для константної ділянки С<sub>k</sub> (h<sub>k</sub>P2; як описано раніше у [Green et al., 1994]). Шляхом прямого секвенування ПЛР-продуктів, утворених з poly (A<sup>+</sup>)-РНК з використанням описаних вище праймерів, отримують молекули нуклеїнової кислоти, що кодують транскрипти важкого ланцюга і легкого каппа-ланцюга людини з гібридом, які продукують антитіла до CD40. ПЛР-продукти клонують в pCR11, використовуючи ТА-

набір для клонування (Invitrogen), і секвенують обидва ланцюги з використанням Prism dye-наборів для термінуючого секвенування і секвенатора ABI 377. Аналізують всі послідовності шляхом вирівнювання за "V BASE sequence directory" (Tomlinson et al., MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, Великобританія) з використанням програмного забезпечення Mac Vector і Geneworks.

Далі, піддають клонуванню і секвенуванню повнорозмірну ДНК моноклональних антитіл 3.1.1, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.28.1, 23.29.1 і 24.2.1. Для такого секвенування

виділяють РНК, приблизно, з 4×10<sup>6</sup> гібридомних клітин з використанням набору для виділення РНК QIAGEN RNeasy (QIAGEN). мРНК піддають зворотному транскрибуванню з використанням oligo-dT(18) і набору Advantage RT/PCR (Clontech). Використовується V Base для створення прямих ампліфікаційних праймерів, які включають сайти рестрикції, оптимальну послідовність Козака, стартовий ATG-сайт і частину сигнальної послідовності даного важкого ланцюга. У Таблиці 1 приведений список прямих ампліфікаційних праймерів, що застосовуються до послідовностей клонів даного антитіла.

Таблиця 1

Клон	Прямий праймер важкого ланцюга
3.1.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAGTTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO:120)
7.1.2	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAGTTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO:121)
10.8.3	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGAAACACCTGTGGTTCTTCC-3' (SEQ ID NO:122)
15.1.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGAAACATCTGTGGTTCTTCC-3' (SEQ ID NO:123)
21.4.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGGACTGGACCTGGAGGATCC-3' (SEQ ID NO:124)
21.2.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAGTTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO:128)
22.1.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAGTTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO:129)
23.5.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAGTTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO:130)
23.28.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGAAACATCTGTGGTTCTTCC-3' (SEQ ID NO:131)
23.29.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAGTTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO:132)
24.2.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGAAACATCTGTGGTTCTTCC-3' (SEQ ID NO:133)

Цей самий спосіб використовують для створення праймера, який включає 3'-кодуючі послідовності, стоп-кодон константної ділянки JgG2, (5'-TTCTCTGATCAGAATTCCTATCAnTACCCGGAGACAGGG-3')(SEQ ID NO: 125) і сайту рестрикції.

Цей самий спосіб використовують також для створення праймера, розташованого біля стартового ATG-сайту каппа-ланцюга: (5'-CTTCAAGCTTACCCGGGCCACCATGAGGCTCCCTGCTCAGC-3')(SEQ ID NO: 126). Оптимальну послідовність Козака додають по 5'-кінцю до стартового ATG-сайту. Даний праймер використовують для ПЛР-клонування легких ланцюгів наступних клонів антитіл: 3.1.1, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1 і 23.29.1. Для клонування легких ланцюгів з клонів 23.28.1 і 24.2.1 використовують другий праймер 5'-TCTTCAAGCTTGCCCGGGCCCGCCACCATGGAAACCCAGCGCAG-3' (SEQ ID NO: 134). Цей же спосіб використовується для створення праймера,

розташованого біля стоп-кодону константної каппа-ділянки (5'-TTCTTTGATCAGAATTCCTCACTAACAACCTCTCCCCTGTTGAAGC-3')(SEQ ID NO: 127). Використовується пара праймерів для ампліфікації кДНК з використанням ПЛР-набору Advantage High Fidelity (Clontech). Послідовність вказаного ПЛР-продукту отримують шляхом прямого секвенування з використанням стандартних методів (наприклад, з використанням випадкової затравки), використовуючи набори для секвенування з термінуючим барвником і ABI-секвенатор. В експресуючий вектор ссавця клонують отриманий ПЛР-продукт і секвенують клони для підтвердження соматичних мутацій. Для кожного клону перевіряють послідовності обох ланцюгів щонайменше в трьох реакціях.

Аналіз утилізації гена

Відповідно до даного винаходу в Таблиці 2 показана утилізація гена за допомогою селективних гібридомних клонів:

Таблиця 2

## Утилізація генів важкого і легкого ланцюга

Клон	Важкий ланцюг			Легкий каппа-ланцюг	
	VH	D	JH	VK	JK
3.1.1	(3-30+) DP-49	D4+DIR3	JH6	A3/A19 (DPK-15)	JK1
7.1.2	(3-30+) DP-49	DIR5+D1-26	JH6	A3/A19 (DPK-15)	JK1
10.8.3	(4.35) VIV-4	DIR3	JH6	L5 (DPS)	JK4
15.1.1	(4-59) DP-71	D4-23	JH4	A3/A19 (DPK-15)	JK2
21.4.1	(1-02) DP-75	DLR1	JH4	L5 (DP5)	JK4
21.2.1	(3-30+) DP-49	DIR-3+D6-19	JH4	A3/A19 (DPK-15)	JK1
22.1.1	(3-30+) DP-49	D1-1	JH6	A3/A19 (DPK-15)	JK1
23.5.1	(3-30+) DP-49	D4-17	JH6	A3/A19 (DPK-15)	JK1
23.28.1	(4-59) DP-71	DIR1+D4-17	JH5	A27 (DPK-22)	JK3
23.29.1	(3-30.3) DP46	D4-17	JH6	A3/A19 (DPK-15)	JK1
24.2.1	(4-59) DP-71	DIR1+D4-17	JH5	A27 (DPK-22)	JK3

## Аналіз послідовності і мутаційний аналіз

Потрібно мати на увазі, що аналіз утилізації гена створює лише загальне уявлення про структуру антитіла. Оскільки В-клітини тварин XenoMouse™ стохастично виробляють транскрипти важкого V-D-J або легкого V-J-каппа-ланцюга, відбувається ряд вторинних процесів, що включають, без обмеження, соматичну гіпермутацію, делеції, N-додавання і CDR3-подовження. [Див., наприклад, Mendez et al., Nature Genetics 15: 146-156 (1997) і Міжнародну Патентну Публікацію WO 98/24893]. Відповідно до цього, для подальшого вивчення структури антитіла, на основі послідовності кДНК, отриманих з даних клонів, передбачені амінокислотні послідовності антитіл. В Таблиці А представлені ідентифікатори послідовностей для кожної нуклеотидної і передбаченої з неї амінокислотної послідовності секвенованих антитіл.

У Таблицях 3-7 представлені нуклеотидні і передбачені з них амінокислотні послідовності важкого і легкого каппа-ланцюга антитіл 3.1.1 (Таблиця 3), 7.1.2 (Таблиця 4), 10.8.3 (Таблиця 5), 15.1.1 (Таблиця 6), 21.4.1 (Таблиця 7).

У Таблицях 8-13 представлені нуклеотидні і передбачені амінокислотні послідовності варіабельного домену важкого ланцюга і легкого каппа-ланцюга антитіл 21.2.1 (Таблиця 8), 22.1.1 (Таблиця 9), 23.5.1 (Таблиця 10), 23.28.1 (Таблиця 11), 23.29.1 (Таблиця 12) і 24.2.1 (Таблиця 13).

ДНК-послідовність з повнорозмірного секвенованого моноклонального антитіла 23.28.1 відрізняється від ДНК-послідовностей, отриманих з секвенування V<sub>H</sub>-ділянки початкового ПЛР-продукту, по одній парі основ (С на G), що приводить до зміни

залишку 16 з D на E в природному важкому ланцюгу.

У Таблицях 14-19 представлені нуклеотидні і передбачені амінокислотні послідовності важкого і легкого каппа-ланцюга антитіл 21.2.1 (Таблиця 14), 22.1.1 (Таблиця 15), 23.5.1 (Таблиця 16), 23.25.1 (Таблиця 17), 23.29.1 (Таблиця 18) і 24.2.1 (Таблиця 19). У даних Таблицях сигнальна пептидна послідовність (або основи, що кодують її) підкреслені.

Створені два мутантних антитіла, 22.1.1 і 23.28.1. Важкий ланцюг антитіла 22.1.1 мутував, замінивши цистеїновий залишок в положенні 109 на аланіновий залишок. Мутантний клон позначений 22.1.1 H-C019A. Легкий ланцюг антитіла 23.28.1 в положенні 92 також мутував, замінивши цистеїновий залишок на аланіновий залишок. Мутантний клон позначений 23.28.1L-C92A.

Мутагенез специфічних залишків здійснюють за допомогою сконструйованих праймерів і з використанням набору для сайт-направленого мутагенезу QuickChange від Stratagene, відповідно до рекомендацій виробника. Мутації підтверджені автоматизованим секвенуванням, а мутаційні вставки субклонують в експресуючі вектори.

У Таблиці 20 представлені нуклеотидна і амінокислотна послідовності мутантного важкого ланцюга антитіла 22.1.1 H-C019A. У Таблиці 21 представлені нуклеотидна і амінокислотна послідовності мутантного легкого ланцюга антитіла 23.28.1. Мутантні ДНК-кодони зображені курсивом. Мутантний амінокислотний залишок виділений шрифтом.

Таблиця 3

Послідовності ДНК і білкові послідовності антитіла 3.1.1.

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ (сигнальна послідовність підкреслена)
ДНК- послідовність важкого ланцюга	<u>ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGC</u> <u>TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGTCAAGGTGCAGCTG</u> GTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG AGGTCCCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCAGTAGTTATGGCATGCACTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGC AGTTATATCAAAGGATGGAGGTAATAAATACCAT GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCA GAGACAATTCCAAGAATGCGCTGTATCTGCAAT GAATAGCCTGAGAGTTGAAGACACGGCTGTGTAT TACTGTGTGAGAAGAGGGCATCAGCTGGTCTTG GATACTACTACTACAACGGTCTGGACGTCTGGGG CCAAGGGACCAAGGTCAACGTCTCTCAGCCTCC ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCTTGGCGCCCT GCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGACACAGCGCCCT GGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACC GTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCTCTGACCA GCGGCGTGCACACCTTCCAGCTGTCTACAGTC CTCAGGACTCTACTCCTCAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCCAGCAACTTCCGACCCAGACCTACA CCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTC GAGTGCCACCGTGCCAGCACCACTGTGGCAG GACCGTCAGTCTCTCTTCCCCCAAAACCCAA GGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACGTGCGTGGTGGTGGAGTGAAGCCACGAAGAC CCCGAGGTCCAGTCAACTGGTACGTGGAAGGCG TGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGG AGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAG CGTCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAAC GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAA GGCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA AAACCAAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAA GAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC TTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGAGAACTACAAGACCA CACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCTCTCTC CTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT GGCAGCAGGGGAACGTCTCTCATGCTCCGTGAT GCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAG AGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA
Білкова послідовність важкого ланцюга	MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA VISKDGGNKYHADSVKGRFTISRDNSEKALYLQMN SLRVEDTAVYYCVRRGHQLVLGYYYNGLDVWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV ERKCCVCEPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRBEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEH ALHNHYTQKSLSLSPGK

ДНК- послідовність легкого ланцюга	<p>ATGAGGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA  TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT  GCTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC  CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG  TCAGAGCCTCTGTATAGTAATGGATACAACCTTT  TGGATTGGTACCTGCAGAAAGCCAGGGCAGTCTCC  ACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCT  CCGGGGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATC  AGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGATTG  GAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGC  AAGCTCTACAACTCCTCGGACGTTCCGCCAAGG  GACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC  ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGC  AGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTCCT  GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA  CAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA  ACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGAC  GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT  CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC  TCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT  GTTAG</p>
Білкова послідовність важкого ланцюга	<p>MRLPAOLLGLMLWVSGSSGDIVLTQSPLSLPVTGP  EPASISCRSSQSLLYSNGYNFLDWYLOKPGQSPQLLI  YLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRLEAEDVG  VYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP  SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL  QSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHK  VYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC</p>
ДНК- послідовність зрілого варіабельного домену важкого ланцюга	<p>CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG  GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG  CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGTTATGGCAT  GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG  GAGTGGGTGGCAGTTATATCAAAGGATGGAGGT  AATAAATACCATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGAT  TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAATGCGCT  GTATCTGCAAATGAATAGCCTGAGAGTTGAAGAC  ACGGCTGTGTATTACTGTGTGAGAAGAGGGGCATC  AGCTGGTCTGGGATACTACTACTACAACGGTCT  GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC  TCCTCA</p>
Білкова послідовність зрілого варіабельного домену важкого ланцюга	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH  WVRQAPGKGLEWVAVESKDGNGKYHADSVKGRFT  ISRDNSEKNAFLYQMNSLRVEDTAVYYCVRRGHQL  VLGYYYYNGLDVWGQGTITVTVSS</p>
ДНК-послідовність зрілого варіабельного домену легкого ланцюга	<p>GATATTGTGCTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC  CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC  AGGTCTAGTCAGAGCCTCTGTATAGTAATGGAT  ACAACTTTTTGGATTGGTACCTGCAGAAAGCCAGG  GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA  ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCACTGG  CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC  AGCAGATTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT  ACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTT  CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA</p>
Білкова послідовність зрілого варіабельного домену легкого ланцюга	<p>DIVLTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSQSLLYSNGYNFL  DWYLOKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGT  DFTLKISRLEAEDVG VYYCMQALQTPRTFGQGTKV  EIK</p>

ДНК важкого ланцюга (варіабельний домен) (3.1.1H-A78T) SEQ ID NO:89	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGTTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCAAAGGATGGAGGT AATAAATACCATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAATaCGCT GTATCTGCAAATGAATAGCCTGAGAGTTGAAGAC ACGGCTGTGTATTACTGTGTGAGAAGAGGGCATC AGCTGGTTCTGGGATACTACTACTACAACGGTCT GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA
Блок важкого ланцюга (варіабельний домен) (3.1.1H-A78T) SEQ ID NO:90	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVAVISKDGGNKYHADSVKGRFT ISRDN SKN7LYLQMNSLRVEDTAVYYCVRRGHQLV LGYYYYNGLDVWGQGTTVTVSS
ДНК важкого ланцюга (варіабельний домен) (3.1.1H-A78T-V88A- V97A) SEQ ID NO:91	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGTTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCAAAGGATGGAGGT AATAAATACCATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAATaCGCT GTATCTGCAAATGAATAGCCTGAGAGoTGAAGAC ACGGCTGTGTATTACTGTGcGAGAAGAGGGCATC AGCTGGTTCTGGGATACTACTACTACAACGGTCT GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA
Блок важкого ланцюга (варіабельний домен) (3.1.1H-A78T-V88A- V97A) SEQ ID NO:92	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVAVISKDGGNKYHADSVKGRFT ISRDN SKN7LYLQMNSLRaEDTAVYYCARRGHQLV LGYYYYNGLDVWGQGTTVTVSS
ДНК легкого ланцюга (варіабельний домен) (3.1.1L-L4M-L83V) SEQ ID NO:93	GATATTGTGaTGA CTCA GTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCTTGTATAGTAATGGAT ACAACTTTTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCA GTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAgTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAATCAAA
Блок легкого ланцюга (варіабельний домен) (3.1.1L-L4M-L83V) SEQ ID NO:94	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLYSNGYNF LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTK VEIK

Таблиця 4

## Послідовності ДНК і білкові послідовності антитіла 7.1.2

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ (сигнальна послідовність підкреслена)
ДНК-послідовність важкого ланцюга	<u>ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGC</u> <u>TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGT</u> CAGGTGCAGCTG GTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG AGGTCCCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGC AGTTATATCAAATGATGGAGATAATAAATACCAT GCAGACTCCGTGTGGGGCCGATTACCATCTCCA GAGACAATTCCAGGAGCACGCTTTATCTGCAAA GAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTATAT TACTGTCCGAGAAGAGGCATGGGGTCTAGTGGG AGCCGTGGGGATTACTACTACTACTACGGTTTGG ACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC CTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC CTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCA CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT CCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTAGGC GCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCAGCTG TCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACC CAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCA AATGTTGTGTGAGTGCCCAACCGTGCCAGCAC ACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCC CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC CCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACG TGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTC GTGTGGTCAGCGTCTCACCCTTGTGCACCGGA CTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGT CTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA ACCATCTCCAAACCAAGGGCAGCCCCGAGAA CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCT GGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTA CACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA TGA
Білкова послідовність важкого ланцюга	MEFGLSWVFLVALLRGVOCQVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKLEWVA VISNDGDNKYHADSVWGRFTISRDNRSRSTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARRGMGSSGSRGDYVYYGLDV WGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSNFGTQYTCNVDHKPSNTKVD KTVRKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPETCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKC KVSNGKLPAPIEKISKTKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK


ДНК-послідовність легкого ланцюга	<p> <b>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA</b>  <b>TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT</b>  <b>GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC</b>  <b>CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG</b>  <b>TCAGAGCCTCTTGTATAGTAATGGATACAACCTTT</b>  <b>TGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCC</b>  <b>ACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCT</b>  <b>CCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGATC</b>  <b>AGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTG</b>  <b>GAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGC</b>  <b>AAGCTCTACAACTCCTCGGACGTTCCGGCCAAGG</b>  <b>GACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC</b>  <b>ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGC</b>  <b>AGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT</b>  <b>GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA</b>  <b>CAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA</b>  <b>ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA</b>  <b>AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGAC</b>  <b>GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT</b>  <b>CTACGCCTGCGAAGTCAACCATCAGGGCCTGAGC</b>  <b>TCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT</b>  <b>GTTAG</b> </p>
Білкова послідовність легкого ланцюга	<p> <b>MRLPAOLLGLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVT</b>  <b>GEPASISCRSSQSLLYSNGYNFLDWYLQKPGQSPQL</b>  <b>LIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSDFTLKISRVEAEDV</b>  <b>GVYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP</b>  <b>PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA</b>  <b>LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEK</b>  <b>KVYACEVTHOGLSSPVTKSFNRGEC</b> </p>
ДНК-послідовність зрілого варіабельного домену важкого ланцюга	<p> <b>CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG</b>  <b>GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG</b>  <b>CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGGCAT</b>  <b>GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG</b>  <b>GAGTGGGTGGCAGTTATATCAAATGATGGAGATA</b>  <b>ATAAATACCATGCAGACTCCGTGTGGGGCCGATT</b>  <b>CACCATCTCCAGAGACAATTCCAGGAGCACGCTT</b>  <b>TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA</b>  <b>CGGCTGTATATTACTGTGCGAGAAGAGGCATGGG</b>  <b>GTCTAGTGGGAGCCGTGGGGATTACTACTACTAC</b>  <b>TACGGTTTGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGG</b>  <b>TCACCGTCTCCTCA</b> </p>
Білкова послідовність зрілого варіабельного домену важкого ланцюга	<p> <b>QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSYGMH</b>  <b>WVRQAPGKGLEWVAVISNDGDNKYHADS VWGRF</b>  <b>TISRDNRSSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGMGS</b>  <b>SGSRGDYVYYGLDVWGQGTTVTVSS</b> </p>
ДНК-послідовність зрілого варіабельного домену легкого ланцюга	<p> <b>GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC</b>  <b>CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC</b>  <b>AGGTCTAGTCAGAGCCTCTTGTATAGTAATGGAT</b>  <b>ACAACTTTTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG</b>  <b>GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTCTTA</b>  <b>ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTG</b>  <b>CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC</b>  <b>AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT</b>  <b>ACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTT</b>  <b>CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA</b> </p>
Білкова послідовність зрілого варіабельного домену легкого ланцюга	<p> <b>DIVMTQSPLSLPVTGEPASISCRSSQSLLYSNGYNF</b>  <b>LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGS</b>  <b>TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTK</b>  <b>VEIK</b> </p>



Таблиця 5

## Послідовності ДНК і білкові послідовності антигіла 10.8.3

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ (сигнальна послідовність підкреслена)
ДНК-послідовність важкого ланцюга	<p><u>ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGC</u>  <u>AGCTCCCAGATGGGTCTGTCCCAGGTGCAGCTG</u>  CAGGAGTCGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG  AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGC  TCCATCAGTAGTTACTACTGGATCTGGATCCGGC  AGCCCGCCGGGAAGGGACTGGAATGGATTGGGC  GTGTCTATAACAGTGGGAGCACCAACTACAACCC  CTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATGTCTAGTAGAC  ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCT  CTGTGACCGCCGCGACACGGCCGTGTATTACTG  TGCAGAGATGGTCTTTACAGGGGGTACGGTATG  GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCT  CCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCC  CCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGC  ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT  TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTACG  CGCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCAGCT  GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA  GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCAC  CCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCC  AGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGC  AAATGTTGTGTCGAGTGCCCAACCGTGCCAGCAC  CACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCC  CCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA  CCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAG  CCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTAC  GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA  AAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTT  CGTGTGGTCAGCGTCTTCAACCGTTGTGACCAAG  ACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG  TCTCCAACAAAGGCCTCCAGCCCCCATCGAGAA  AACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCCGAGA  ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAG  GAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCC  TGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGT  GGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA  CTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGAC  GGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG  ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCT  CATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCA  CTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGT  AAATGA</p>
Білкова послідовність важкого ланцюга	<p>MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPS  TSLTCTVSGGSISSYYWIWIRQPAKGLEWIGRVY  TSGSTNYPNPSLKSRVTMSVDTSKNQFSLKLSVTA  DTAVYYCARDGLYRGYGMVWVGQITVTVSSAS  TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT  VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS  NFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVKCCVECPPC  PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV  SHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREQFNSTFR  VVSVLTVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI  SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG  FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFLY  SKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSL  SLSPGK</p>

	
ДНК-послідовність зрілого варіабельного домену важкого ланцюга	<p>CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTG  GTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA  CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTTACTACTGG  ATCTGGATCCGGCAGCCCGCCGGAAGGGACTG  GAATGGATTGGGCGTGTCTATACCAGTGGGAGCA  CCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCAC  CATGTCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCC  CTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGG  CCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGTCTTTACAG  GGGGTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGAC  CACGGTCACCGTCTCCTCA</p>
Білкова послідовність зрілого варіабельного домену важкого ланцюга	<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWTWI  RQPAGKGLEWIGRVYTSGSTNYPNPSLKSRVTMSVD  TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDGLYRGYGM  DVWGQGTTVTVSS</p>
ДНК-послідовність зрілого варіабельного домену легкого ланцюга	<p>GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGT  CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG  TCGGGCGAGTCAGCCTATTAGCAGCTGGTTAGCC  TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAA  CTCCTGATTTATTCTGCCTCCGGTTTGCAAAGTGG  GGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGG  ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGC  CTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGAC  TGACAGTTTCCCGCTCACTTTCGGCGGCGGGACC  AAGGTGGAGATCAAA</p>
Білкова послідовність зрілого варіабельного домену легкого ланцюга	<p>DIQMTQSPSSVSASVGDRVTTTCRASQPISSWLA WY  QOKPGKAPKLLIYSASGLQSGVPSRFSGSGSGTDFT  LTISSLQPEDFATYYCQQTDSFPLTFGGGTKVEIK</p>

Таблиця 6

Послідовності ДНК і білкові послідовності антигіла 1 S.1.1

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ (сигнальна послідовність підкреслена)
ДНК-послідовність важкого ланцюга	<u>ATGAAACATCTGTGGTTCCTTCCTTCCTGGTGGC</u> <u>AGCTCCCAGATGGGTCTCTCCCAGGTGCAGCTG</u> CAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG AGACCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGC TCCATCAGAAGTTACTACTGGACCTGGATCCGGC AGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGAT ATATCTATTACAGTGGGAGCACCAACTACAATCC CTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGAC ATGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTT CTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTTTATTACTG TGGAGAAAGGGTGACTACGGTGGTAATTTTAAC TACTTTCACCAAGTGGGGCCAGGGAACCTGGTCA CCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCC GAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGA ACTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTT CCCAGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTT CGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTT GAGCGCAAATGTTGTGTGTCGAGTGCCACCGTGCC CAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTCT CTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGG ACGTGAGTCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGC ACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTTGTGC ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGT GCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAAGGGCAGCC CCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCC CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCACGCGACA TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAATAACAAGACACACCTCCCATGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCA CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCTGTCTC CGGGTAAATGA
Білкова послідовність важкого ланцюга	MKHLWFFLLVAAPRWYLSQVQLQESGPGLVKPS TSLTCTVSGGSIRSYWWTWIRQPPGKLEWIGYIY YSGSTNYPNPSLKSRVTISVDMKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYCARKGDYGGNFNYFHQWGQGTILVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SNFGTQTYTCNVDEHKPSNTKVDKTVERKCCVECP CPAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVHWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK

ДНК-послідовність легкого ланцюга	<p>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA  TGCTCTGGGCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT  GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC  CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG  TCAGAGCCTCCTACATACTAATGGATACTAATAT  TTCGATTGGTACCTGCAGAAAGCCAGGGCAGTCTC  CACAACCTCTGATCTATTGGGTTCTAATCGGGCC  TCCGGGGTCCCTGACAGGTTTCAAGTGGCAGTGGAT  CAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGT  GGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATG  CAAGCTCTACAACTCCGTACAGTTTGGCCAGG  GGACCAAGCTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTG  CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG  CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT  GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA  CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA  ACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGAC  GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT  CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC  TCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT  GTTAG</p>
Білкова послідовність легкого ланцюга	<p>MRLPAOLLGLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVT  GEPASISCRSSQSLHTNGYNYFDWYLQKPGQSPQL  LIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSDFTLKISRVEADV  GVYYCMQALQTPYSFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFP  PSDEQLKSGTASVVCILNNFYPREAKVQWKVDNA  LQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKH  KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
ДНК-послідовність зрілого варіабельного домену важкого ланцюга	<p>CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTG  GTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA  CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGAAAGTTACTACTG  GACCTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGGGACT  GGAGTGGATTGGATATATCTATTACAGTGGGAGC  ACCAACTACAATCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCA  CCATATCAGTAGACATGTCCAAGAACCAGTTCTC  CCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCTGCGGACACG  GCCGTTTATTACTGTGCGAGAAAGGGTGACTACG  GTGGTAATTTAACTACTTTCACCAGTGGGGCCA  GGGAACCCTGGTCAACCGTCTCCTCA</p>
Білкова послідовність зрілого варіабельного домену важкого ланцюга	<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIRSYWYTW  IRQPPGKGLEWIGYIYSGSTNYPNPSLKSRTISVD  MSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARKGDYGGNFN  YFHQWGQGLVTVSS</p>
ДНК-послідовність зрілого варіабельного домену легкого ланцюга	<p>GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC  CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC  AGGTCTAGTCAGAGCCTCCTACATACTAATGGAT  ACAACCTATTTGATTGGTACCTGCAGAAAGCCAGG  GCAGTCTCCACAACCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA  ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGG  CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC  AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT  ACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCGTACAGTTT  TGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA</p>
Білкова послідовність зрілого варіабельного домену легкого ланцюга	<p>DIVMTQSPLSLPVTGEPASISCRSSQSLHTNGYNY  FDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGS  GSDFTLKISRVEADVGVYYCMQALQTPYSFGQGTK  LEIK</p>

Таблиця 7

## Послідовності ДНК і білкові послідовності антитіла 21.4.1

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ (сигнальна послідовність підкреслена)
ДНК-послідовність важкого ланцюга	<p> <u>ATGGACTGGACCTGGAGGATCCTCTTCTTGGTGG</u>  <u>CAGCAGCCACAGGAGCCCACTCC</u>CAGGTGCAGCT  GGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGG  GGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGA  TACACCTTCACCGGCTACTATATGCACTGGGTGC  GACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGG  GATGGATCAACCTGACAGTGGTGGCACAACCTA  TGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACC  AGGGACACGTCCATCAGCACAGCCTACATGGAGC  TGAACAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTA  TACTGTGCGAGAGATCAGCCCCCTAGGATATTGT  ACTAATGGTGTATGCTCCTACTTTGACTACTGGG  GCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTC  CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCC  TGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCC  TGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC  GGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCTCTGACC  AGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCTACAGT  CCTCAGGACTCTACTCCTCAGCAGCGTGTGTGAC  CGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTAC  ACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCA  AGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGT  CGAGTGCCCAACCGTGCCAGCACCACTGTGGCA  GGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCA  AGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT  CACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA  CCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC  GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGG  GAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCA  GCGTCTCACCCTGTGTGACCAAGGACTGGCTGAA  CGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAA  AGGCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC  AAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTG  TACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA  AGAACCAGGTGAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGG  CTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG  AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACC  ACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCT  CCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGG  TGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA  TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAA  GAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA </p>
Білкова послідовність важкого ланцюга	<p> MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPS  E  TLSLTCTVSGGSIRSYWYTWIRQPPGKLEWIGY  TY  YSGSTNYPNPSLKSRTISVDMSKNQFSKLSSV  TAA  DTAVYYCARKGDYGGNPNYFHWGQGTLVTVSS  ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE  PV  TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS  SNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECP  P  CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV  VD  VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST  F  RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK  TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  K  GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSGSSFL  YSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHIALHNHYTQKS  LSLSPGK </p>

ДНК-послідовність легкого ланцюга	<p> <b>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGC</b>  <b>TGCTCTGGTTCCCAGGTTCCAGATGCCACATCCA</b>  <b>GATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTG</b>  <b>TAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTGGGGCGAG</b>  <b>TCAGGGTATTTACAGCTGGTTAGCCTGGTATCAG</b>  <b>CAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAACCTCCTGATCT</b>  <b>ATACTGCATCCACTTTACAAAGTGGGGTCCCATC</b>  <b>AAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTT</b>  <b>ACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAACCTGAAGATT</b>  <b>TTGCAACTTACTATTGTCAACAGGCTAACATTTTC</b>  <b>CCGCTCACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGA</b>  <b>TCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCAT</b>  <b>CTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA</b>  <b>ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTA</b>  <b>TCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGA</b>  <b>TAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGT</b>  <b>GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTAC</b>  <b>AGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCA</b>  <b>GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA</b>  <b>GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAA</b>  <b>AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG</b> </p>
Білкова послідовність легкого ланцюга	<p> <b>MRLPAOLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVG</b>  <b>DRVTTTCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTA</b>  <b>STLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTSSLPEDFATYYC</b>  <b>QQANIFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL</b>  <b>KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS</b>  <b>QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYRKHKVYAC</b>  <b>EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</b> </p>
ДНК-послідовність зрілого варіабельного домену важкого ланцюга	<p> <b>CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGA</b>  <b>AGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAA</b>  <b>GGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATG</b>  <b>CACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTG</b>  <b>AGTGGATGGGATGGATCAACCCTGACAGTGGTGG</b>  <b>CACAACTATGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTC</b>  <b>ACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCCT</b>  <b>ACATGGAGCTGAACAGGCTGAGATETGACGACA</b>  <b>CGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGCCCCCT</b>  <b>AGGATATTGTACTAATGGTGTATGCTCCTACTTTG</b>  <b>ACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTC</b>  <b>CTCA</b> </p>
Білкова послідовність зрілого варіабельного домену важкого ланцюга	<p> <b>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYM</b>  <b>HWVRQAPGQGLEWMGWNPDSGGTNYAQKFQGR</b>  <b>VTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPL</b>  <b>GYCTNGVCSYFDYWGGQGLVTVSS</b> </p>
ДНК-послідовність зрілого варіабельного домену легкого ланцюга	<p> <b>GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGT</b>  <b>CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG</b>  <b>TCGGGCGAGTCAGGGTATTTACAGCTGGTTAGCC</b>  <b>TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAC</b>  <b>CTCCTGATCTATACTGCATCCACTTTACAAAGTGG</b>  <b>GGTCCCATCAAGGTTTACGCGGCAGTGGATCTGGG</b>  <b>ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAC</b>  <b>CTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGC</b>  <b>TAACATTTTCCCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACC</b>  <b>AAGGTGGAGATCAAA</b> </p>
Білкова послідовність зрілого варіабельного домену легкого ланцюга	<p> <b>DIQMTQSPSSVSASVGDRVTTTCRASQGIYSWLAWY</b>  <b>QQKPGKAPNLLIYTA</b>  <b>STLQSGVPSRFSGSGSGTDFT</b>  <b>LTSSLPEDFATYYCQQANIFPLTFGGGTKVEIK</b> </p>



Таблиця 8

Послідовності ДНК і білкові послідовності зрілих  
варіабельних доменів антитіла 21.2.1

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ
ДНК важкого ланцюга	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGTCATG CACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGG AGTGGGTGGCAGTTATGTCATATGATGGAAGTAG TAAATACTATGCAAACTCCGTGAAGGGCCGATT ACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAAATAAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA CGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGGGTAA AGCAGTGCCTGGTCTGACTACTGGGGCCAGGGA ATCCTGGTCACCGTCTCCTCAG
Білок важкого ланцюга	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYVMH WVRQAPGKGLEWVAVMSYDGSSKYYANSVKGRF TISRDN SKNTLYLQINSLRAEDTAVYYCARDGGKA VPGPDYWGQGILVTVSS
ДНК легкого ланцюга	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGTGTCTGTATAGTAATGGAT ACAACTATTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGTTTACAACTCCATTCACTTTC GGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAAC
Білок легкого ланцюга	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSVLYSNGYNY LDWY LQKPGQSPQLLIYLG SNRASGV PDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQVLQTPFTFGPGTK VDIK

Таблиця 9

Послідовності ДНК і білкові послідовності зрілих  
варіабельних доменів антитіла 22.1.1

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ
ДНК важкого ланцюга	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTCGCTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCATCTGATGGAGGTA ATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATT CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA CGGCTGTGTATTACTGTACGAGAAGAGGGACTGG AAAGACTTACTACCACTACTGTGGTATGGACGTC TGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAG
Білок важкого ланцюга	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSRYGMH WVRQAPGKGLEWVA VISSDGGNKYYADSVKGRFT ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRGTGKT YYHYCGMDVWGQGTTVTVSS

ДНК легкого ланцюга	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGTATAGTAATGGAT ATAACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACACCTCCTGATCTATTTGGGTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGG CAGTGGTTCAGGCACTGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC
Білок легкого ланцюга	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLYSNGYNY LDWYLQKPGQSPHLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTK VEIK

Таблиця 10

Послідовності ДНК і білкові послідовності зрілих  
варіабельних доменів антитіла 23.5.1

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ
ДНК важкого ланцюга	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG TAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAACTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAATTATATCATATGATGGAAGTA ATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATT CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATGTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGAC ACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGACGCGGTCACT ACGGGAGGGATTACTACTCCTACTACGGTTTGA CGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCC TCAG
Білок важкого ланцюга	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSNYGMH WVRQAPGKGLEWVAHSYDGSNKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYVQMNSLRAEDTAVYYCARRGHYGR DYYSYYGLDVWGQGTTVTVSS
ДНК легкого ланцюга	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCCTGGTAATGGAT ACAACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC
Білок легкого ланцюга	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLPGNGYNY LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTK VEIK



Таблиця 11

Послідовності ДНК і білкові послідовності зрілих  
варіабельних доменів антитіла 23.28.1

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ
ДНК важкого ланцюга	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTG GTGAAGCCTTCGGACACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGAGGTTACTACTG GAGCTGGATCCGGCAGCCCCCTGGGAAGGGACT GGAGTGGATTGGGTATATCTATTACAGTGGGAGC ACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCA CCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAACTCTGTGACCGCTGCGGACACG GCCGTGTATTATTGTGCGAGAAAGGGGGGCCCTCT ACGGTGACTACGGCTGGTTCGCCCCCTGGGGCCA GGGAACCCTGGTCAACGCTCTCCTCAG
Білок важкого ланцюга	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVSGGSIRGYYS WIRQPPGKGLEWIGYIYSGSTNYPNPSLKSRTISV DTSKNQFSLKLNSTVAADTAVYYCARKGGLYGDY GWFAPWGQGTLLVTVSS
ДНК легкого ланцюга	GA AATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCGACTTA GCCTGGCACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCA GACTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCAC TGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCT GGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGG AGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCA CTGTCGTAGCTTATTCACCTTCGGCCCTGGGACCA AAGTGGATATCAAAC
Білок легкого ланцюга	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSDLAWH QQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQHCRSLFTFGPGTKVDIK
ДНК важкого ланцюга (варіабельний домен) (23.281H-D16E) (SEQ ID NO: 97)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTG GTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGAGGTTACTACTG GAGCTGGATCCGGCAGCCCCCTGGGAAGGGACT GGAGTGGATTGGGTATATCTATTACAGTGGGAGC ACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCA CCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAACTCTGTGACCGCTGCGGACACG GCCGTGTATTATTGTGCGAGAAAGGGGGGCCCTCT ACGGTGACTACGGCTGGTTCGCCCCCTGGGGCCA GGGAACCCTGGTCAACGCTCTCCTCAG
Білок важкого ланцюга (варіабельний домен) (23.281H-D16E) (SEQ ID NO: 98)	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVSGGSIRGYYS WIRQPPGKGLEWIGYIYSGSTNYPNPSLKSRTISV DTSKNQFSLKLNSTVAADTAVYYCARKGGLYGDY GWFAPWGQGTLLVTVSS

Таблиця 12

Послідовності ДНК і білкові послідовності зрілих  
варіабельних доменів антитіла 23.29.1

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ
ДНК важкого ланцюга	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGCCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCATATGATGGAAGTA ATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATT CACCATCTACAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA CGGCTGTGTATTACTGTGCGAGACGCGGTCACCTA CGGGAATAATTACTACTCCTATTACGGTTTGGAC GTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCT CAG
Білок важкого ланцюга	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFT GYRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGHY NNYYSYYGLDVWVGQGTITVTVSS
ДНК легкого ланцюга	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCCTGGTAATGGAT ACAAC TATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGG CAGTGGCTCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTT CGGCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC
Білок легкого ланцюга	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLP GNGYNY LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGS TDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQALQTPRTFGQGTK VRIK

Таблиця 13

Послідовності ДНК і білкові послідовності зрілих  
варіабельних доменів антитіла 24.2.1

ОПИС	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
ДНК важкого ланцюга	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCCAGGACTG GTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGAGGTTACTACTG GAGCTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGGGACT GGAGTGGATTGGGTATATCTATTACAGTGGGAGC ACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCA CCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCTGCGGACACG GCCGTGTATTACTGTGCGAGAAGGGGGGGCCTCT ACGGTGACTACGGCTGGTTCGCCCCCTGGGGCCA GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAG
Білок важкого ланцюга	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIRGYYS WIRQPPGKGLEWIGYIYSGSTNYPNPSLKSRTISV DTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCARRGGLYGDY GWFAPWGQGTITVTVSS

ДНК легкого ланцюга	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCACCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCA GGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCAC TGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCT GGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGG AGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTAGCA GTATAGTAGCTTATTCACTTTTCGGCCCTGGGACC AAAGTGGATATCAAAC
Білок легкого ланцюга	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSTYLAWY QKPGQAPRLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQYSSLFTFGPGTKVDIK

Таблиця 14

Послідовності ДНК і білкові послідовності антитіла 21.2.1

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ (сигнальна послідовність підкреслена)
ДНК важкого ланцюга	<u>ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTCCTCGTTGC</u> <u>TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGTCAAGTGCAGCTG</u> GTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCAGTAGCTATGTCATGCACTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGC AGTTATGTCATATGATGGAAGTAGTAAATACTAT GCAAACTCCGTGAAGGGCCGATTCAACATCTCCA GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAAT AAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTAT TACTGTGCGAGAGATGGGGGTAAAGCAGTGCCTG GTCCTGACTACTGGGGCCAGGGAATCCTGGTCAC CGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTC TTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCG AGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAA CTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCAGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCT CAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTC GGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACA AGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTG AGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCC AGCACACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTC TTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGA CGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAAC TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA AGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCA CGTTCCGTGTGGTCAGCGTCCTCACC GTTGTGCAC CAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAGGCCTCCAGCOCCTATCG AGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCC GAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCG GGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACAGCCTGAC CTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCACAGCGACATC GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG ACAACCTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACT CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTC TTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACAGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCC GGGTAAATGA

	<p>MEFGLSWVFLYALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPG          RSLRLSCAASGFTFSSYVMHWVRQAPGKLEWVA          VMSYDGSSKYYANSVKGRFTISRDN SKNTLYLQINS          LRAEDTAVYYCARDGGKAVPGPDYWGQILVTVS          SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP          VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP          SSNFGTQTYTCNV D HKPSNTKVDKTV ERKCCVECP          PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD          VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF          RVVSVLTVVHQD W L N GKEYKCKVSNKGLPAPIEK          TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK          GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFL          YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV M H EALHNEYTQKS          LSLSPGK</p>
	<p><u>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA</u>  <u>TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT</u>          GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC          CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG          TCAGAGTGTCTGTATAGTAATGGATACAACATAT          TTGGATTGGTACCTGCAGAAAGCCAGGGCAGTCTC          CACAGCTCCTGATCTATTGGGTTCTAATCGGGCC          TCOGGGGTCCCTGACAGGTTTCACTGGCAGTGGAT          CAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGT          GGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATG          CAAGTTTACAAACTCCATTCACTTTCGGCCCTGG          GACCAAAGTGGATATCAAACGAACTGTGGCTGCA          CCATCTGTCTTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCA          GTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGC          TGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA          GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC          TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG          GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGC          TGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCT          ACGCCTGCGAAGTCAACCATCAGGGCCTGAGCTC          GCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTG          TTAG</p>
Блок легкого ланцюга	<p><u>MRLPAOLLGLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVT</u>  <u>GEPAISCRSSQSVLYSNGYNYLDWYLQKPGQSPQL</u>  <u>LIYLGSNRASGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV</u>  <u>GVYYCMQVLTPTFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFP</u>  <u>PSDEQLKSGTASVCLLNFPYFPAKQVQWVDNA</u>  <u>LQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK</u>  <u>KVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC</u></p>

Таблиця 15

Послідовності ДНК і білкові послідовності антитіла 22.1.1

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ (сигнальна послідовність підкреслена)
ДНК важкого ланцюга	<p><u>ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGC</u>  <u>TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGTCAAGTGCAACTG</u>          GTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG          AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT          TCACCTTCAGTCGCTATGGCATGCACTGGGTCCG          CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGC          AGTTATATCATCTGATGGAGGTAATAAATACTAT          GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCA          GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAAT          GAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTAT          TACTGTACGAGAAGAGGGACTGGAAAGACTTACT</p>

ACCACTACTGTGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGG  
 GACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG  
 GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCA  
 GGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGGCT  
 GCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC  
 GGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCTCTGACCAGCGGC  
 GTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCTCAG  
 GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCC  
 CTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGC  
 AACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG  
 GACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGT  
 GCCCACCGTGCCAGCACCACTGTGGCAGGACC  
 GTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGAC  
 ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGT  
 GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCG  
 AGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGA  
 GGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGA  
 GCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTC  
 CTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCA  
 AGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCC  
 TCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAAC  
 CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACAC  
 CCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAAC  
 CAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT  
 ACCCCAGCGACATCGCCGTGGAAGTGGGAGAGCA  
 ATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACAC  
 CTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTC  
 TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG  
 CAGCAGGGGAACGTCCTTCTCATGCTCCGTGATGC  
 ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGA  
 GCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

Блок важкого ланцюга

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPG  
RSRLSCAASGFTFSRYGMHWVRQAPGKGLEWVA  
 VISSDGGNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN  
 SLRAEDTAVYYCTRRGTGKTYHYCGMDVWGQG  
 TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK  
 DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS  
 SVVTVPSNFGTQYTCNVDHKPSNTKVDKTVRK  
 CCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV  
 TCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE  
 EQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKG  
 LPAPIEKTIISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS  
 LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLD  
 SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN  
 HYTQKSLSLSPGK

ДНК легкого ланцюга

ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA  
TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT  
 GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC  
 CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG  
 TCAGAGCCTCCTGTATAGTAATGGATATAACTAT  
 TTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC  
 CACACCTCCTGATCTATTGGGTTCTAATCGGGCC  
 TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGGCAGTGCTT  
 CAGGCACTGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGT  
 GGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATG  
 CAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTTCCGGCCAAG  
 GGACCAAGGTGGAAATCAAACGAAGTGTGGCTG  
 CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG  
 CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT  
 GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA  
 CAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA  
 ACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  
 AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTTGAC

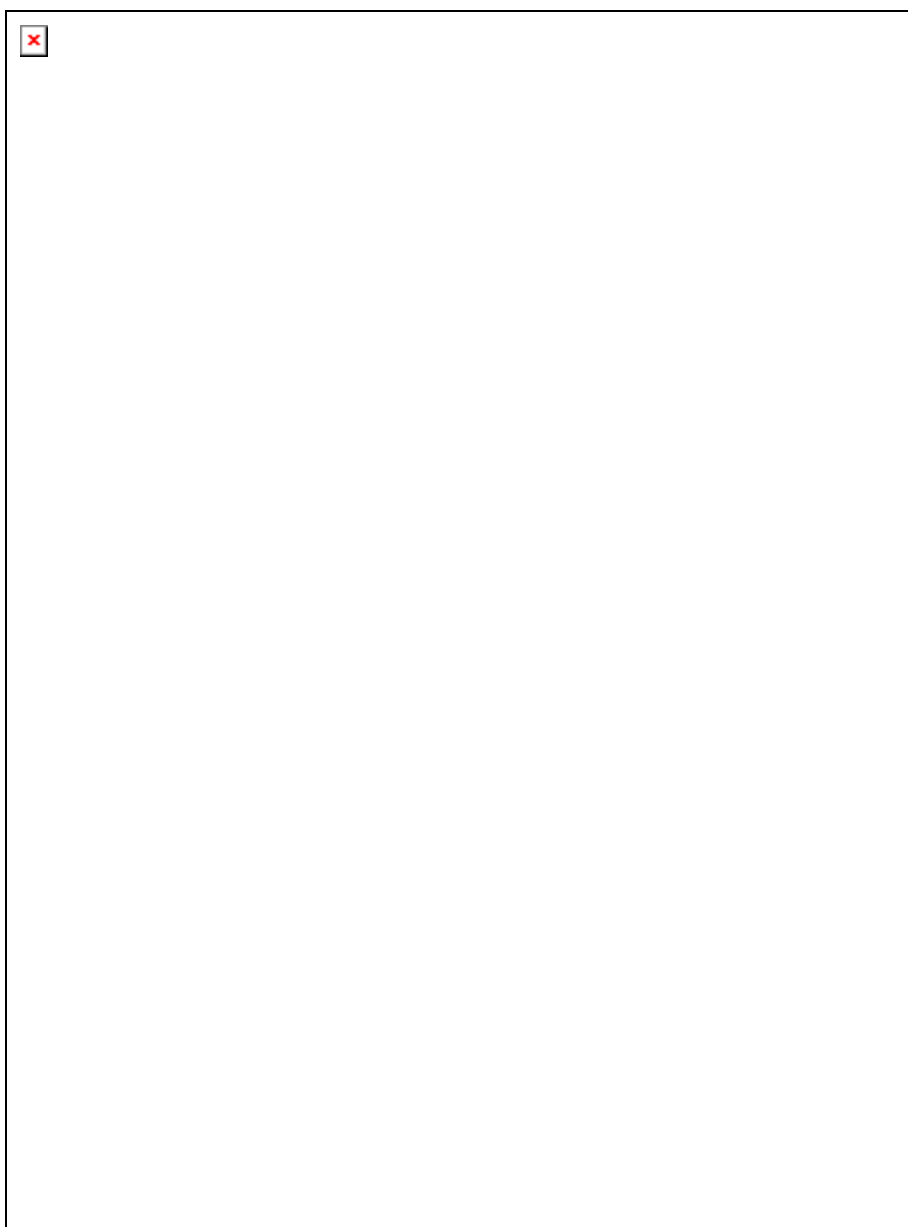
	GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC TCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT GTTAG
Білок легкого ланцюга	MRLPAOLLGLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVTP GEPASISCRSSQSLLYSNGYNYLDWYLQKPGQSPHL LIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVAEDV GVYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Таблиця 16

Послідовності ДНК і білкові послідовності антитіла 23.5.1

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ (сигнальна послідовність підкреслена)
ДНК важкого ланцюга	<u>ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTTCCTCGTTGC</u> <u>TCTTTTAAAGAGGTGTCCAGTGTCAAGGTGCAGCTG</u> GTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGTAGCCTCTGGATT CACCTTCAGTAACATATGGCATGCACTGGGTCCCG CAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCA ATTATATCATATGATGGAAGTAATAAATACTATG CAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAG AGACAATTCCAAGAACACGCTGTATGTGCAAATG AACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATT ACTGTGCGAGACGCGGTCACTACGGGAGGGATTA CTACTCCTACTACGGTTTGGACGTCTGGGGCCAA GGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCA AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTC CAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTG ACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCTCTGACCAGCG GCGTGACACCTTCCCAGCTGTCTACAGTCTCTC AGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG CCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCT GCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTGCA GTGCCACCGTGCCAGCACCACTGTGGCAGGA CCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGG ACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTAC GTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC GAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGG AGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGT CCTCACCGTTGTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGT AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGC CTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAA CCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACA CCCTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAA CCAGGTCAACCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCA CCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCT CTACAGCAAGCTCAACGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGA GCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA





Таблиця 17

Послідовності ДНК і білкові послідовності антитіла 23.28.1

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ (сигнальна послідовність підкреслена)
ДНК важкого ланцюга	<u>ATGAAACATCTGTGGTTCTTCCTTCTCCTGGTGGC</u> <u>AGCTCCCAGATGGGTCCCTGTCCCAGGTGCAGCTG</u> CAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGC TCCATCAGAGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGGC AGCCCCCTGGGAAGGGAAGTGGAGTGGATTGGGT ATATCTATTACAGTGGGAGCACCACCTACAACCC CTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGAC ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAACCT CTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTATTG TGCGAGAAAGGGGGGCCTCTACGGTGACTACGG CTGGTTCGCCCCCTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTC ACCGTCTCCTCAGCCTCCAQCAAGGGCCCATCGG

	<p> TCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCC  GAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG  GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGA  ACTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTT  CCCAGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC  TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTT  CGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAC  AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTT  GAGCGCAAATGTTGTGTGCGAGTGCCACCGTGCC  CAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCT  CTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC  TCCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGG  ACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAA  CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC  AAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGC  ACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTGTGTG  ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGT  GCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCAGCCCCAT  CGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCC  CCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCC  CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCCTG  ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACA  TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG  AGAACAACACTACAAGACCACACCTCCCATGTGGA  CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCA  CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG  TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC  AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC  CGGGTAAATGA </p>
--	--

Білок важкого ланцюга

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSB  
TSLTCTVSGGSIRGYYSWIRQPPGKLEWIGYIY  
YSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLNSTAA  
DTAVYYCARKGGLYGDYGFAPWGQGLTVTVSS  
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV  
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS  
SNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKCCVECP  
CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD  
VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF  
RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK  
TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK  
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGDSFPL  
YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS  
LSLSPGK

ДНК легкого ланцюга

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTCCTCCTGCT  
ACTCTGGCTCCCAGAAATCCACCGGAGAAATTGTG  
TTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCC  
AGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGT  
CAGAGTGTTAGCAGCAGCGACTTAGCCTGGCACC  
AGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGACTCCTCAT  
CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCA  
GACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACT  
TCACTCTACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGA  
TTTTGCAGTGTATTACTGTACGCACTGTCTGTAGCT  
TATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATAT  
CAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATC  
TTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA  
CTGCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTAT  
CCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGAT  
AAGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTG  
TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA  
GCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAG  
ACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT  
CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAG  
AGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG



Білок легкого ланцюга	<p>METPAQLLFLLLWLPESTGEIVLTQSPGTLSPGGE  RATLSCRASQSVSSDLAWHQKPGQAPRLIYGA  SSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC  QHCRSLFTPGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK  SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  ESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACE  VTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
-----------------------	---

Таблиця 18

Послідовності ДНК і білкові послідовності антитіла 23.29.

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ (сигнальна послідовність підкреслена)
ДНК важкого ланцюга	<p><u>ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCTCGTTGC</u>  <u>TCCTTTAAGAGGGTGTCCAGTGT</u>CAGGTGCAACTG  GTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG  AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT  TCACCTTCAGTAGCTATGCCATGCACTGGGTCCG  CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGC  AGTTATATCATATGATGGAAGTAATAAATACTAT  GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTACA  GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT  GAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTAT  TACTGTGCGAGACGCGGTCACTACGGGAATAATT  ACTACTCCTATTACGGTTTGGACGTCTGGGGCCA  AGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACC  AAGGGCCCATCGGTCTTCCCOCTGGCGCCCTGCT  CCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGG  GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCCTGT  GACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCTCTGACCAGC  GGCGTGACACCTTCCCAGCTGTCTACAGTCTCT  CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT  GCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC  TGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAG  GTGGACAAGACAGTGTGAGCGCAAATGTTGTGTCG  AGTGCCCAACCGTGCCAGCACCACTGTGGCAGG  ACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAG  GACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCA  CGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC  CGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG  GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAG  GAGCAGTTCAACAGCACGTTCCTGTGGTCAAGC  TCCTCACCGTTGTGCAACAGGACTGGCTGAACGG  CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGG  CCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA  ACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC  ACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGA  ACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTT  CTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC  AATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACA  CCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCCT  CTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTG  GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG  CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGA  GCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA</p>

Білок важкого ланцюга	<p>MEFGLSWVELVALLRGVOCQVQLVESGGGVVQPG  RSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVA  VISYDGSNKKYADSVKGRFTTYRDNSKNTLYLQMN  SLRAEDTAVYYCARRGHYGNYYSYGLDVWGQ  GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV  KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL  SSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVR  KCCVECPAPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE  VTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR  EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK  GLPAPIEKTIISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ  VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPM  LDSGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL  HNHYTQKSLSLSPGK</p>
ДНК легкого ланцюга	<p>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA  TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT  GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC  CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG  TCAGAGCCTCCTGCCTGGTAATGGATACAACAT  TTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC  CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC  TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGCT  CAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGT  GGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTATTACTGCATG  CAAGCTCTACAAACTCCTCGGACGTTCCGCCAAG  GGACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTG  CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG  CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT  GCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTT  CAGTGGAGGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA  ACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGAC  GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT  CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC  TCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT  GTTAG</p>
Білок легкого ланцюга	<p>MRLPAQLGLLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVT  GEPASISCRSSQSLPGNGYNYLDWYLQKPGQSPQL  LIYLGSNRASGVDRFSGSGSTDFTLKISRVEAEDV  GIYYCMQALQTPRTFGQGTKVBIKRTVAAPSVEIFP  PSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWRVDNA  LQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKH  KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
ДНК легкого ланцюга (23.29.1LR174K) (SEQ ID NO: 101)	<p>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA  TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT  GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC  CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG  TCAGAGCCTCCTGCCTGGTAATGGATACAACAT  TTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC  CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC  TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGCT  CAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGT  GGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTATTACTGCATG  CAAGCTCTACAAACTCCTCGGACGTTCCGCCAAG  GGACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTG  CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG  CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT  GCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTT  CAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA  ACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGAC  GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT  CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC  TCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT  GTTAG</p>

Білок легкого ланцюга (23.29.1LR174K) (SEQ ID NO:101)	<u>MRLPAOLLGLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVTP</u> GEPASISCRSSQSLIPGNGYNYLDWYLQKPGQSPQL LIYLGSNRASGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEADV GIYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWAKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLISKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
---	---

Таблиця 19

## Послідовності ДНК і білкові послідовності антитіла 24.2.1

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ (сигнальна послідовність підкреслена)
ДНК важкого ланцюга	<u>ATGAAACATCTGTGGTTCTTCCTTCTCCTGGTGGC</u> <u>AGCTCCCAGATGGGTCTGTCCCAGGTGCAGCTG</u> CAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG AGACCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGC TCCATCAGAGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGGC AGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGT ATATCTATTACAGTGGGAGCACCAACTACAACCC CTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGAC ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTT CTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAAGGGGGGGCCTCTACGGTGACTACGG CTGGTTCGCCCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTC ACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGG TCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACTCC GAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGA ACTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTT CCCAGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTT CGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTT GAGCGCAAATGTTGTGTGTCGAGTGCCACCGTGCC CAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCT CTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTACCGTGCGTGGTGGTGG ACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGC ACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTTGTGC ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGT GCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCAGCCCCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCC CCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCC CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACA TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAACCTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCA CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC CGGGTAAATGA

Білок важкого ланцюга	<b>MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSB</b> <b>TLSTCTVSGGSIRGYYSWIRPPGKGLEWIGYTY</b> <b>YSGSTINYNSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTA</b> <b>DTAVYYCARKGGLYGDYGFAPWGQGLTVTVSS</b> <b>ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV</b> <b>TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS</b> <b>SNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPP</b> <b>CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD</b> <b>VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRREQFNSTF</b> <b>RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK</b> <b>TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK</b> <b>GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMQLDSGSPFL</b> <b>YSKLTVDKSRWQQGNVFCFVMHREALHNYTQKS</b> <b>LSLSPGK</b>
ДНК легкого ланцюга	<b>ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCTCTCTGCT</b> <b>ACTCTGGCTCCAGAAATCCACCGGAGAAATTGTG</b> <b>TTGACGCAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCC</b> <b>AGGGGAAAGAGCCACCCTCTCTGCAGGGCCAGT</b> <b>CAGAGTGTTAGCAGCAGCGACTTAGCCTGGCACC</b> <b>AGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGACTCCTCAT</b> <b>CTATGGTGATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCA</b> <b>GACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACT</b> <b>TCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGA</b> <b>TTTTGCAGTGATTACTGTCAGCACTGTCGTAGCT</b> <b>TATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATAT</b> <b>CAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATC</b> <b>TTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA</b> <b>CTGCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTAT</b> <b>CCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGAT</b> <b>AACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTG</b> <b>TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA</b> <b>GCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAG</b> <b>ACTACGAGAAACACAAGTCTACGCTGCGCAAGT</b> <b>CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAG</b> <b>AGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG</b>
Білок легкого ланцюга	<b>METPAQLLELLLLWLPESTGEIVLTQSPGTLSPGGE</b> <b>RATLSRASQSVSSDLAWHQKPGQAPRLLIYGA</b> <b>SSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC</b> <b>QHCRSLFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK</b> <b>SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ</b> <b>ESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACE</b> <b>VTHQGLSSPVTKSFNRGEC</b>

Таблиця 20

Послідовності ДНК і білкові послідовності зрілих  
варіабельних доменів антитіла 22.1.1 H-C109A

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ (сигнальна послідовність підкреслена)
ДНК важкого ланцюга (SEQ ID NO: 95)	<b>CAGGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG</b> <b>GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG</b> <b>CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTCGCTATGGCAT</b> <b>GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG</b> <b>GAGTGGGTGGCAGTTATATCATCTGATGGAGGTA</b> <b>ATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATT</b> <b>CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG</b> <b>TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA</b> <b>CGGCTGTGTATTACTGTACGAGAAGAGGGACTGG</b> <b>AAAGACTTACTACCACTACGCCGTATGGACGTC</b> <b>TGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAG</b>
Білок важкого ланцюга (SEQ ID NO: 96)	<b>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSRYGMH</b> <b>WVRQAPGKGLEWVAVISSDGGNKYYADSVKGRFT</b> <b>ISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCTRRGTGKT</b> <b>YYHYAGMDVWGQGTITVTVSS</b>

Таблиця 21

Послідовності ДНК і білкові послідовності зрілих  
варіабельних доменів антитіла 23.28.1 L-C92A

ОПИС	ПОСЛІДОВНІСТЬ (сигнальна послідовність підкреслена)
ДНК легкого ланцюга (SEQ ID NO: 99)	<b>GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT</b> <b>CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG</b> <b>CAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCGACTTA</b> <b>GCCTGGCACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCA</b> <b>GACTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCAC</b> <b>TGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCT</b> <b>GGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGG</b> <b>AGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCA</b> <b>CGCCCGTAGCTTATTCACTTTCGGCCCTGGGACC</b> <b>AAAGTGGATATCAAAC</b>
Білок легкого ланцюга (SEQ ID NO: 100)	<b>EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSDLAWH</b> <b>QQKPGQAPRLLYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL</b> <b>TISRLPEPDEFAVYYCQHARSLFTFGPGTKVDIK</b>

#### Приклад III

Аналіз амінокислотних замін важкого і легкого ланцюга На Фіг.1B-1H і 2D-2H представлено вирівнювання послідовностей між передбаченими амінокислотними послідовностями варіабельного домену важкого ланцюга моноклональних антитіл 3.1.1, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1 H-C109A, 23.5.1, 23.28.1, 23.28.1 H-D16E, 23.29.1 і 24.2.1-антитіла, і амінокислотними послідовностями їх відповідних генів клітин зародкової лінії. Більшість CDR3-ділянок важкого ланцюга містять амінокислотні вставки.

Ген DLR1, що використовується для V<sub>H</sub>-домену антитіла 21.4.1, кодує два цистеїнових (Cys) залишки. Мас-спектрометричний аналіз і моделювання гомології демонструє, що два Cys-залишки пов'язані дисульфідним зв'язком, і що даний дисульфідний зв'язок не порушує структуру даного антитіла.

На Фіг.1A-1C і 2A-2C представлено вирівнювання послідовностей між передбаченими амінокислотними послідовностями варіабельного домену легкого ланцюга моноклональних антитіл 3.1.1, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.28.1, 23.28.1 L-C92A, 23.29.1 і 24.2.1-клонів і амінокислотними послідовностями їх відповідних генів клітин зародкової лінії. Легкі ланцюги цих антитіл отримані з трьох різних V<sub>K</sub>-генів. Сім з одинадцяти антитіл використовують V<sub>K</sub>-ген A3/A 19, шість з яких володіють двома мутаціями на ділянці CDR1. Крім того, п'ять з семи антитіл, які використовують V<sub>K</sub>-ген A3/A 19, також використовують J<sub>K</sub>-ген; у всіх цих антитіл перша амінокислота, що виробляється J<sub>K</sub>1-геном, послідовно замінена з W на R.

Потрібно мати на увазі, що багато які з ідентифікованих вище амінокислотних замін або вставок існують в безпосередній близькості або в межах CDR. Мабуть, такі заміни впливають деяким чином на зв'язування даного антитіла з CD40-молекулою. Крім того, такі заміни могли б вплива-

ти істотним чином на спорідненість даних антитіл.

#### Приклад IV

Перефресна реактивність видів антитіл даного винаходу

Здійснюють FACS-аналіз для визначення зв'язування і спорідненості антитіл даного винаходу з CD40 різних видів тварин, зокрема, деяких видів мавп Старого Світу. Аліквоти цільної крові людини і мавпи інкубують протягом 1 години на льоду з концентраціями проілюстрованих тут антитіл даного винаходу до CD40, або з антитілом до гемоціаніну, равлика-блюдця (KLH), що закривається, як негативний контроль. Потім дані зразки інкубують протягом 30 хвилин на льоду з антитілами людини до IgG2, кон'югованими з RPE (фікоеритрином). Проточною цитометрією вимірюють CD19/CD20-позитивні В-клітини і з використанням програмного забезпечення CellQuest аналізують гістограми інтенсивності флуоресценції (F12-H) в залежності від числа клітин (Counts). По графіках середньої інтенсивності флуоресценції, в залежності від концентрації антитіл, оцінюють зв'язування (K<sub>D</sub>) для кожного антитіла. Виснаження антитіл контролюють шляхом вимірювання зв'язування серед клітинних концентрацій.

Тестують зв'язування антитіл 3.1.1, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1 і 21.4.1 з В-клітинами людини, резусамаки і сунгольгус. Тестують також зв'язування антитіл 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.29.1 і 24.2.1 з В-клітинами людини і сунгольгус.

Спостерігають, що максимальний сигнал і концентрація для половини максимального зв'язування антитіл з клітинами мавпи знаходяться в межах коефіцієнта, що змінює своє значення від двох одиниць і до значення відповідних параметрів для В-клітин людини. Зв'язування не спостерігається в аналогічних експериментах для крові миші, щура, кролика і собаки.

#### Приклад V

Селективність антитіл по CD40

Для визначення селективності антитіл даного

винаходу у відношенні CD40 здійснюють інший *in vitro*-аналіз.

ІФА-селективність по CD40: Матеріали і методи

96-ямковий FluoroNUNC-планшет (Nunc Cat №475515) покривають чотирма антигенами: CD40/Ig, CD44/Ig, RANK/Ig, 4-1BB/Ig, TNFR-1/Ig і TNFR-2/Ig (антигени власного виготовлення), протягом ночі при +40С по 100мкл/ямка, з розрахунку 1мкг/мл в 0,1М натрійбікарбонатному буфері, рН9,6. Потім цей планшет промивають три рази PBST (PBS+0,1% Твін-20), і промитий планшет блокують за допомогою PBST+0,5%BSA в концентрації 150мкл/ямка. Блокований планшет інкубують при кімнатній температурі протягом 1 години, після чого промивають тричі PBST. Далі, розбавляють отримані в Прикладі I антитіла проти CD40 до концентрації 1мкг/мл і підливають розбавлені антитіла в цей планшет. Інкубують даний планшет при кімнатній температурі протягом 1 години, потім тричі промивають PBST. Після цього для блокування обробляють дану ямку, яка містить антитіла, отримані в Прикладі I, за допомогою 100мкл/ямка кон'югованих з HRP антитіл до IgG2 людини (Southern Biotech Cat №9070-05) в розведенні 1:4000. Крім того, один ряд ямок обробляють антитілом до IgG людини (Jackson Cat №209-035-088), розведеного 1:5000 для блокування, що додається в кількості 100мкл/ямка для нормалізації сенсibiliзації планшету. Один ряд ямок обробляють також кон'югованим з HRP антитілом людини до CD40 (Pharmingen Cat №345815/Custom HRP conjugated) з розведенням 0,05мкг/мл як позитивний контроль. Даний планшет інкубують при кімнатній температурі протягом 1 години і потім тричі промивають PBST. До 100мкл/ямка додають TMB-субстрат (K&P Labs) і цей планшет інкубують протягом 5-10 хвилин. Потім прочитують інкубований планшет з використанням спектрофотометра Spectra-Max™. Отримані результати свідчать про те, що дані антитіла володіють селективністю у відношенні CD40 щонайменше в 100 раз вищою, ніж їх селективність у відношенні RANK, 4-1BB, TNFR-1 і TNFR-2, для яких специфічний сигнал CD4-- (CD40-сигнал мінус фон) щонайменше 100X вище, ніж відповідний сигнал для інших молекул.

Приклад VI

Вивчення класифікації епітопів

Продемонструвавши, що антитіла даного винаходу селективні у відношенні CD40, здійснюють аналіз конкурентного зв'язування з використанням BIAcore і FACS.

Вивчення BIAcore-конкуренції

Здійснюють BIAcore-конкурентне дослідження,

щоб визначити, чи зв'язуються антитіла даного винаходу до CD40 з одними і тими ж або з різними ділянками на молекулі CD40.

У даних експериментах використовують прилад BIAcore 2000, відповідно до протоколів виробника. На поверхнях сенсорного чипа BIAcore іммобілізують білок-A. CD40-Ig в насичуючій концентрації, який включає позаклітинний домен CD40, зв'язують з сенсорним чипом. Потім зв'язують агоніст першого антитіла людини даного винаходу до CD40, комерційне антитіло до CD40 або CD40L з сенсорним чипом, що містить зв'язаний в насичуючих умовах CD40. Після цього вимірюють здатність агоністу другого антитіла людини даного винаходу до CD40 конкурувати з вказаним першим антитілом, комерційним антитілом або CD40L за зв'язування з CD40. Даний метод дозволяє визначити антитіла з різними зв'язуючими групами. Зв'язування з CD40 свідчить про пізнавання незалежного епітопу. Відсутність зв'язування може свідчити про пізнавання одного і того ж епітопу, або про перекриття епітопів.

FACS-дослідження

Здійснюють FACS-дослідження, щоб визначити, чи зв'язуються антитіла людини даного винаходу до CD40 з однією і тією самою або з різними ділянками на даній CD-молекулі, і чи зв'язуються вони з однією і тією ж або відмінною ділянкою на CD-молекулі, як у комерційно доступних антитіл до CD40 EA5 (Alexis Cat. №ANC-300-050), LOB7/6 (Serotec MCA/590PE) і 5C3 (Pharmingen # 555458 (немічений) і 555460 (мічений PE для FACS).)

Контрастнозabarвлені дендритні клітини, оброблені антитілами до CD40 даного винаходу, мітять на льоду протягом 30 хвилин за допомогою PE-міченого антитіла EA5 або PE-міченого антитіла LOB7/6. Після промивання забарвлені клітини аналізують на В-D-калібрувальному цитометрі. Зменшене зв'язування комерційних антитіл інтерпретують як вказівку на те, що дане антитіло, яке тестується, зв'язане з одним і тим самим епітопом або з епітопом, що перекривається.

Аналіз конкурентного зв'язування за допомогою BIAcore і FACS показує, що епітопи, які розпізнаються монАТ 21.4.1-антитілами, перекриваються з епітопом, який розпізнається EA5-антитілом, але не перекриваються з епітопом, який розпізнається комерційно доступним LOB7/6-антитілом, і не перекриваються з сайтом, який зв'язує CD40L. Епітопи, що розпізнаються іншими антитілами перекриваються з сайтом, який зв'язує CD40L.

У Таблиці 22 підсумовані результати вивчення класифікації епітопів.

Таблиця 22

BIAcore-конкурентна класифікація епітопів деяких антитіл до CD40 даного винаходу

	EA5	5C3	LOB7/6	3.1.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.29.1	21.4.1	23.25.1, 23.28.1, 24.2.1	CD40L
EA5	X	X			X		X
5C3	X	X			X	X	X
LOB7/6			X	X		X	X
3.1.1,			X	X			X
21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.29.1,							
21.4.1	X	X			X		
23.25.1, 23.28.1, 24.2.1		X	X			X	X
CD40L	X	X	X	X		X	X

## Приклад VII

Регуляція поверхневих молекул антитілами до CD40

Здійснюють аналіз цільної крові, щоб з'ясувати чи регулюють антитіла до CD40 даного винаходу експресію молекул на поверхні В-клітин.

Цільну кров людини або мавпи розбавляють 1:1 середовищем RPMI і інкубують 24 години з різними концентраціями агоністу CD40-антитіл або контрольними антитілами. Клітини забарвлюють протягом 30 хвилин (на льоду, в темряві) на HLA-DR, ICAM, B7-1, B7-2, CD19/CD20, CD40, CD23 і CD71 з використанням комерційно доступних реагентів для флуорохромного мічення антитіл. Потім забарвлені клітини аналізують на FACS-калібраторі (Becton-Dickinson). В-клітини ідентифікують шляхом пропущення через CD19- або CB20-позитивні клітини, а активацію маркерів визначають по цьому проходженню.

Максимальне кратне збільшення середньої флуоресценції (при  $\leq 1$  мкг/мл антитіла), і середню  $EC_{50}$ , отримують з використанням одного із заявлених в даному винаході антитіл до CD40 (21.4.1), які представлені в Таблиці 23.

Таблиця 23

Регуляція молекул на поверхні В-клітин за допомогою антитіла до CD40 даного винаходу

	Максимальна кратність збільшення	$EC_{50}$ (нг/мл)
	Середня +/- ст.в.ідх.	Середня +/- ст.в.ідх.
MHC II	4,50+7-0,52	3,85+7-0,35
CD71	2,30+7-0,77	0,73+7-0,28
ICAM	4,52+7-2,42	15,3+7-7,3
CD23	69,9+7-25,8	19,0+7-4,4
B7-2	2,74+7-0,14	16,0+7-21,9

Здійснюють також експерименти по визначенню здатності антитіл людини до CD40 даного винаходу регулювати експресію молекул на поверхні дендритної клітини, що походить з моноциту.

Отримання моноцит-похідних дендритних клітин

Периферичну кров збирають від здорових людей-добровольців. Виділяють моноядерні клітини з використанням пробірок Sigma Accuspin (St. Louis, MO), які ополіскують середовищем RPMI (Gibco BR1, Rockville, MD) і вміщують їх в колби для тканинного культивування з концентрацією клітин  $5 \times 10^6$ /мл в повному середовищі RPMI (яке містить 100 Од./мл пеніциліну/стрептоміцину, 10 мМ буферу HEPES, 2 мМ глутаміну, 0,1 мМ замінимих амінокислот; всі від Gibco BRL); і 10% навколоплідної сироватки теляти (Hyclone, Logan, Utah). Після 3-х годин інкубації при 37°C (5%  $CO_2$ ), видаляють не прилипли клітини і виділяють Т-клітини з використанням селективних колонок (R&D systems, Minneapolis, MN). Прилипли клітини промивають середовищем RPMI і інкубують протягом 7 днів в повному середовищі RPMI з доданням 10 нг/мл IL-4 (R&D systems) і 100 нг/мл GM-CSF (R&D systems). Потім виділяють не прилипли клітини і застосовують їх у всіх експериментах як моноцит-похідні дендритних клітини (mDC). Прилипли клітини, що залишилися, видаляють з використанням трипсину/ЕДТА і застосовують в експериментах, що використовують прилипли моноцити.

Для визначення здатності антитіл до CD40 даного винаходу регулювати експресію маркерів клітинної поверхні, моноцит-похідні дендритні клітини культують з різними концентраціями агоністів антитіл протягом 48-72 годин з подальшим фарбуванням (30 хвилин на льоду, в темряві) на наявність HLA-DR, ICAM, B7-1, B7-2, CD40 і CD83 з використанням комерційно доступних мічених флуорохромом антитільних реагентів. Потім забарвлені клітини аналізують на FACS-калібраторі (Becton-Dickinson).

Максимальна кратність збільшення середньої флуоресценції (при  $\leq 1$  мкг/мл антитіла) і середню  $EC_{50}$ , що отримуються з використанням одного із заявлених в даному винаході антитіл до CD40 (21.4.1), представлені в Таблиці 24.

Таблиця 24

Регуляція молекул  
на поверхні дендритних клітин за  
допомогою антигіла даного винаходу до CD40

	Максимальна кратність збільшення	EC <sub>50</sub> (нг/мл)
	Середнє +/- ст.в.ідх.	Середнє +/- ст.в.ідх.
MHC II	7,7+/-5,6	252+/-353
CD83	36,3+/-42,2	233+/-262
ICAM	10,4+/-4,8	241+/-140
B7-2	21,9+7-9,4	71,4+7-44,4

Аналогічні експерименти здійснюють з В-

клітинами і mDC з використанням різних антитіл даного винаходу до CD40 і додаткових маркерів. Вимірюють експресію молекул на поверхні В-клітин (MHC-II, ICAM, B7-1, B7-2 і CD23), як описано вище, але з використанням 1мкг/мл антитіла до CD40. Результати даного експерименту представлені в Таблиці 25. Експресію молекул на поверхні дендритних клітин (MHC-II, ICAM, B7-1, B7-2 і CD83) вимірюють через 72 години, як указано вище, але з використанням 1мкг/мл антитіла до CD40. Результати даного експерименту представлені в Таблиці 26. В Таблицях 25-26 представлені кратність збільшення середньої інтенсивності ± стандартне відхилення.

Таблиця 25

Регуляція молекул на поверхні В-клітин за допомогою антигіл даного винаходу до CD40

	MHC Клас II	ICAM (CD54)	B7-(CD80)	B7-2(CD86)	CD23
	В-клітина	В-клітина	В-клітина	В-клітина	В-клітина
3.1.1	3,2+/-2,6	1,3+/-0,2	1,7+/-0,2	1,2+/-0,4	5,6+7-4,8
21.2.1	1,2+/-0,2	1,3+/-0,9	0,9+/-0,5	1,0+/-0,04	1,0+/-0,1
21.4.1	3,6+/-3,0	5,0+/-3,0	1,9+/-0,8	1,8+/-0,7	21,5+/-34,8
22.1.1	1,4+/-0,5	1,1+/-0,2	1,2+/-0,3	1,0+/-0,1	1,3+/-0,2
23.5.1	1,4+/-0,5	1,1+/-0,2	1,4+/-0,6	1,0+/-0,1	1,1+/-0,2
23.25.1	2,5+/-1,1	2,5+/-0,9	1,6+/-0,4	1,3+/-0,2	4,3+/-2,3
23.28.1	1,1+/-0,2	1,1+/-0,2	1,8+/-0,6	1,0+/-0,1	1,1+/-0,4
23.29.1	1,2+/-0,2	1,0+/-0,2	1,3+/-0,6	0,9+/-0,2	1,1+/-0,1
24.2.1	1,8+7-1,0	1,6+/-0,8	1,1+7-0,4	1,1+/-0,2	0,9+/-0,6

Таблиця 26

Регуляція молекул на поверхні дендритних клітин за допомогою антигіл даного винаходу до CD40

	MHC Клас II	ICAM (CD54)	B7-1 (CD80)	B7-2 (CD86)	CD23
	DC	DC	DC	DC	DC
3.1.1	4,4+/-2,4	1,5+/-0,7	1,8+/-0,9	23,7+/-33,5	15,2+/-18,2
21.2.1	1,8+/-1,3	1,5+/-0,9	0,9+/-0,4	7,4+/-10,5	10,8+/-16,5
21.4.1	5,0+/-3,8	3,7+/-1,4	1,5+/-1,1	12,9+/-13,3	48,6+/-49,5
22.1.1	2,3+/-1,2	1,6+/-0,7	1,4+/-1,0	16,3+/-25,5	12,0+/-17,0
23.5.1	2,3+/-1,8	1,2+/-0,5	1,1+/-0,6	10,7+/-17,5	9,2+/-11,1
23.25.1	2,1+/-1,8	2,4+/-1,0	1,1+/-0,5	3,3+/-4,2	13,6+/-28,9
23.28.1	2,4+/-1,7	2,7+/-2,1	1,3+/-0,6	10,6+/-17,5	18,3+/-22,6
23.29.1	2,0+/-1,5	1,2+/-0,4	0,9+/-0,5	8,4+/-10,6	10,6+/-13,1
24.2.1	4,7+/-3,0	2,1+/-1,2	3,8+/-3,8	56,6+7-95,8	31,2+7-28,4

У Таблиці 27 порівнюють регуляцію молекул клітинної поверхні дендритних клітин відносно В-клітин по співвідношенню середнього кратного збільшення в дендритних клітинах відносно середнього кратного збільшення в В-клітинах.

Таблиця 27

Регуляція молекул клітинної поверхні дендритних клітин відносно В-клітин

	B7-1 (CD80)	B7-2 (CD86)	MHC, клас II	ICAM (CD54)
3.1.1	1,08	19,40	1,38	1,15
21.2.1	1,01	7,37	1,49	1,12
21.4.1	0,77	7,04	1,37	0,74
22.1.1	1,18	16,36	1,61	1,44
23.5.1	0,83	10,54	1,59	1,06
23.25.1	0,66	2,57	0,85	0,98
23.28.1	0,71	10,81	2,16	2,57
23.29.1	0,73	9,07	1,66	1,23
24.2.1	3,48	52,30	2,64	1,35



## Приклад VIII

## Посилення секреції цитокінів

Здійснюють аналіз моноцит-похідних дендритних клітин, щоб з'ясувати, чи посилюють антитіла людини до CD40 даного винаходу секрецію IL-12p40, IL-12p70 і IL-8.

Моноцит-похідні дендритні клітини і адгезивні моноцити отримують, як описано вище. Клітини культивують в присутності антитіла даного винаходу до CD40 (21.4.1) або з гемоцjanіном равлика-блюдця (KLN), що закривається. Через 24 години в супернатантах вимірюють вміст даних цитокінів за допомогою ІФА (R&D systems). У деяких дослідженнях (дивіться Таблицю 28) моноцит-похідні дендритні клітини обробляють даним антитілом, яке коstimулюють або 100нг/мл LPS (Sigma), 1000Од./мл IFN $\gamma$  (R&D systems) або 25нг/мл IL-1p (R&D systems).

Антитіло до CD40 посилює утворення IL-12p40, IL-12p70 і IL-8 і в моноцит-похідних дендритних клітинах і в адгезивних моноцитах. Присутність LPS додатково посилює утворення IL-12p40 і IL-12p70. І тільки в супернатантах дендритних клітин, що інкубуються з ізотипом контрольного антитіла до KLN, детектуються мінімальні рівні цитокінів. Репрезентативні результати представлені в Таблиці 28 і на Фіг.3 і 4. В Таблиці 28 підсумовуються дані по основних цитокінах, що виробляються дендритними клітинами або адгезивними моноцитами, під впливом 1мкг/мл антитіла даного винаходу до CD40 (21.4.1)±100нг/мл LPS. Як показано на Фіг.3, антитіло до CD40 посилює утворення IL-12p40, завдяки дендритним клітинам людини. Фіг.4 ілюструє посилене утворення IL-12p70, завдяки дендритним клітинам людини в присутності даного антитіла і 100нг/мл LPS.

Таблиця 28

Посилення секреції IL-12p40, IL-12p70 і IL-8 під впливом антитіла даного винаходу до CD40

Тип клітини	Обробка		Цитокін, що індукується		
	Антитіло 1мкг/мл	LPS 100нг/мл	IL-12p40 пг/мл	IL-12p70 пг/мл	IL-8 пг/мл
Дендритні клітини	21.4.1	+	32252	1000	НВ
	21.4.1	-	1200	76	1200
	анти-KLN	+	14280	352	НВ
	анти-KLN	-	200	4	150
Адгезивний моноцит	21.4.1		НВ	НВ	7000
	21.4.1	+	НВ	425	НВ
	анти-KLN	-	НВ	НВ	400
	анти-KLN	+	НВ	30	НВ

НВ= не визначено

Аналогічні експерименти здійснюють з використанням багатьох антитіл даного винаходу до CD40. Моноцит-похідні дендритні клітини отримують, як описано вище, і культивують в присутності різних концентрацій антитіл до CD40 і коstimулюють за допомогою 100нг/мл LPS (Sigma). Вміст IL-12p70 вимірюють в супернатанті через 24 години з допомогою ІФА (R&D systems) і для кожного антитіла визначають EC<sub>50</sub>. Результати даних експериментів представлені в Таблиці 29.

Таблиця 29

Посилення секреції  
IL-12p70 дендритними клітинами

Клон антитіла	DC IL-12p70	
	EC <sub>50</sub> мкг/мл	Max пг/мл
21.4.1	0,3	1796-7004
22.1.1	0,1	720-1040
23.25.1	0,2	540-960
23.5.1	0,1	676-1112
24.2.1	0,2	754-3680
3.1.1	0,2	668-960
23.28.1	0,2	1332-1404
23.29.1	0,1	852-900
21.2.1	0,03	656-872

Протестована також здатність антитіл даного винаходу проти CD40 посилювати секрецію гамма-IFN Т-клітин в аналізі алогенних Т-

клітин/дендритних клітин. Для здійснення даного аналізу з периферичної крові здорових добровольців виділяють Т-клітини і моноцити. Моноцити диференціюють на дендритні клітини з використанням описаних вище способів. 1×10<sup>5</sup> Т-клітин, отриманих від індивіда, культивують з 1×10<sup>5</sup> дендритними клітинами, отриманими від різних індивідів в присутності антитіла даного винаходу до CD40 або в присутності контрольного антитіла. Після 4-х днів культивування, отримані супернатанти аналізують за допомогою ІФА відносно секреції гамма-IFN. Результати даного аналізу представлені в Таблиці 30.

Таблиця 30

Посилення секреції гамма-IFN за  
допомогою антитіла даного винаходу до CD40

Клон антитіла	Ало-DC/INF $\gamma$	
	EC <sub>50</sub> мкг/мл	Max пг/мл
21.4.1	0,3	212
22.1.1	0,3	110-180
23.25.1	0,3	180-232
23.5.1	0,2	150-240
24.2.1	0,2	111-194
3.1.1	0,1	100-195
23.28.1	0,2	120-190
23.29.1	0,3	134-150
21.2.1	0,03	230-256

#### Приклад IX

Індукція запальних цитокінів антитілами даного винаходу до CD40

Антитіла 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1 і 3.1.1 тестують в аналізі по вивільненню цитокінів в цільній крові, описаному у [Wing et al., Therapeutic. Immunol. 2: 183-90 (1995)], щоб визначити, чи індукуються запальні цитокіни під впливом антитіл в концентрації 1, 10 і 100мкг/мл. З даними антитілами при вказаних концентраціях в крові від 10 нормальних донорів істотного вивільнення TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  або IL-6 не спостерігається.

#### Приклад X

Посилення імуногенності клітинної лінії Ju за допомогою антитіл до CD40

CD-позитивні JIYOYE-клітини (ATCC CCL 87) ("Ju-клітини") культивують і підтримують в RPMI-середовищі. JIYOYE-клітини інкубують протягом 24-х годин з антитілом даного винаходу до CD40 (24.4.1), або з ізотипом відповідного антитіла (проти KLH), в повному RPMI-середовищі. Потім клітини промивають і обробляють 25мг мітоміцин С (Sigma)/7мл середовища протягом 60хв. Потім ці клітини інкубують з виділеними Т-клітинами людини в співвідношенні 1:100 протягом 6 днів при 37°C (5% CO<sub>2</sub>). Після цього Т-клітини збирають, промивають і визначають рівень CTL-активності проти JIYOYE-клітин, недавно помічених <sup>51</sup>хромом (New England Nuclear, Boston, MA). Специфічну CTL-активність обчислюють у вигляді % специфічного цитолізу=(цитолізу Ju (срм) - спонтанний цитоліз (срм))/(повний цитоліз (срм) - спонтанний цитоліз (срм)).

Як впливає з ілюстрації на Фіг.5, антитіло даного винаходу до CD40 (21.4.1) істотно підвищує імуногенність проти Ju-клітин, оброблених за допомогою даного антитіла.

#### Приклад XI

Тваринна модель пухлини

Для подальшого дослідження протипухлинної активності антитіл до CD40, зроблених відповідно до даного винаходу, створюють SCID-beige-мишачу модель для перевірки in vivo впливу даного антитіла на ріст злоякісної пухлини.

З Charles River отримують SCID-beige-мишей і протягом тижня аклімують їх перед використанням в досліді. Клітини пухлини (Daudi-клітини (ATCC CCL 213), CD40(-), K562-клітини (ATCC CCL 243) і CD40(+) Raji-клітини (ATCC CCL 86), злоякісні клітини молочної залози BT474 (ATCC HTB 20) або PC-3-клітини передміхурової залози (ATCC CRL 1435) ін'єктують підшкірно в концентрації 1×10<sup>7</sup> клітин/тварина. У деяких випадках Т-клітини (5×10<sup>5</sup>) і дендритні клітини (1×10<sup>5</sup>) від одного і того ж людини-донора ін'єктують разом з клітинами пухлини. Ін'єктують також антитіло даного винаходу до CD40, або відповідний контрольний ізотип (проти KLH), внутрішньочеревинно, безпосередньо перед ін'єкцією клітин пухлини (тільки одна ін'єкція). Потім вимірюють зростання пухлини. Конкретні експерименти описуються нижче.

В одному з експериментів ін'єктують антитіло даного винаходу до CD40 (21.4.1), або відповідний контрольний ізотип (проти KLH), внутрішньочере-

винно, в дозі 10мг/кг безпосередньо перед ін'єкцією клітин пухлини (тільки одна ін'єкція). Клітини пухлини (Daudi-клітини) ін'єктують підшкірно в концентрації 1×10<sup>7</sup> клітин/тварина. Ріст пухлини вимірюють за допомогою штангенциркуля на 17, 19, 20, 21, 25, 26, 27 і 28 дні після імплантації в присутності Т-клітин людини і дендритних клітин. Як показано на Фіг.6, антитіло до CD40 придушує ріст пухлини, приблизно, на [60] %.

В іншому експерименті антитіло даного винаходу до CD40 (21.4.1), або відповідний контрольний ізотип (проти KLH), ін'єктують внутрішньочеревинно в дозі 0,1мг/кг або 10мг/кг безпосередньо перед ін'єкцією клітин пухлини (тільки одна ін'єкція). Клітини пухлини (K562-клітини) ін'єктують підшкірно в концентрації 1×10<sup>7</sup> клітин/тварина. У даному експерименті Т-клітини (5×10<sup>5</sup>) і дендритні клітини (1×10<sup>5</sup>) від одного і того ж людини-донора ін'єктують разом з клітинами пухлини. Ріст пухлини вимірюють за допомогою штангенциркуля на 17, 19, 20, 21, 25, 26, 27 і 28 день після імплантації. Як показано на Фіг.7, антитіло до CD40 інгібує ріст пухлини на 60-85%.

В іншому експерименті антитіло даного винаходу до CD40 (21.4.1, 23.29.1 або 3.1.1), або відповідний контрольний ізотип (проти KLH), ін'єктують внутрішньочеревинно безпосередньо перед ін'єкцією клітин злоякісної пухлини (тільки одна ін'єкція). Відповідний контрольний ізотип даного антитіла і антитіло 21.4.1. ін'єктують в дозі 1мг/мл. Антитіла 23.29.1. і 3.1.1 ін'єктують в дозі 0,1, 0,01, 0,001 або 0,0001мг/кг. Клітини злоякісної пухлини (K562-клітини) ін'єктують підшкірно в концентрації 1×10<sup>7</sup> клітин/тварина. У даному експерименті Т-клітини (5×10<sup>5</sup>) і дендритні клітини (1×10<sup>5</sup>) від одного і того ж людини-донора ін'єктують разом з даними клітинами злоякісної пухлини. Потім за допомогою штангенциркуля вимірюють зростання злоякісної пухлини на 28-й день після імплантації. Результати даного експерименту представлені на Фіг.8 і 9. Кожна точка на цих фігурах відповідає вимірюванню на окремій тварині.

В іншому експерименті антитіло даного винаходу до CD40 (21.4.1), або відповідний контрольний ізотип (проти KLH), ін'єктують внутрішньочеревинно безпосередньо перед ін'єкцією клітин пухлини (тільки одна ін'єкція). Вказані антитіла ін'єктують в дозі 0,1, 0,01, 0,001 або 0,0001мг/кг. Клітини пухлини (Raji-клітини) ін'єктують підшкірно в концентрації 1×10<sup>7</sup> клітин/тварина. Деяким тваринам Т-клітини (5×10<sup>5</sup>) і дендритні клітини (1×10<sup>5</sup>) від одного і того ж людини-донора ін'єктують разом з даними клітинами пухлини. Потім на 28-й день після імплантації вимірюють зростання пухлини за допомогою штангенциркуля. Результати даного експерименту подані на Фіг.10. Кожна точка на даній фігурі відповідає вимірюванню на окремій тварині.

Ще в одному експерименті антитіло даного винаходу до CD40 (21.4.1, 23.28.1, 3.1.1 або 23.5.1), або відповідний контрольний ізотип (проти KLH), ін'єктують внутрішньочеревинно безпосередньо перед ін'єкцією клітин пухлини (тільки одна ін'єкція). Вказані антитіла ін'єктують в дозі 1 або 0,1мг/кг. Клітини пухлини (Raji-клітини) ін'єктують

підшкірно в концентрації  $1 \times 10^7$  клітин/тварина. Потім на 28-й день після імплантації вимірюють ріст пухлини за допомогою штангенциркуля. Результати даного експерименту подані на Фіг.11. Кожна точка на даній фігурі відповідає вимірюванню на окремій тварині.

Ще в одному експерименті антитіло даного винаходу до CD40 (21.4.1, 2329.1 або 3.1.1), або відповідний контрольний ізотип (проти KLH), ін'єктують внутрішньочеревинно безпосередньо перед ін'єкцією клітин пухлини (тільки одна ін'єкція). Вказані антитіла ін'єктують в дозі 1мг/кг. Клітини пухлини (BT474-клітини злоякісної пухлини молочної залози) ін'єктують підшкірно в концентрації  $1 \times 10^7$  клітин/тварина. Т-клітини ( $5 \times 10^5$ ) і дендритні клітини ( $1 \times 10^5$ ) від одного і того ж донора ін'єктують разом з даними клітинами пухлини. Потім за допомогою штангенциркуля вимірюють зростання злоякісної пухлини на 39-й день після імплантації. Як показано на Фіг.12, всі вказані антитіла інгібують зростання злоякісної пухлини молочної залози. Кожна точка на даній фігурі відповідає вимірюванню на окремій тварині.

Ще в одному експерименті антитіло даного винаходу до CD40 (3.1.1), або відповідний контрольний ізотип (проти KLH), ін'єктують внутрішньочеревинно безпосередньо перед ін'єкцією клітин пухлини (тільки одна ін'єкція). Вказані антитіла ін'єктують в дозі 1мг/кг. Клітини пухлини (PC-3-клітини пухлини передміхурової залози) ін'єктують підшкірно в концентрації  $1 \times 10^7$  клітин/тварина.

Потім за допомогою штангенциркуля вимірюють зростання пухлини на 41-й день після імплантації. Як показано на Фіг.13, антитіло до CD40 інгібує зростання пухлини передміхурової залози, приблизно, на 60%. Кожна точка на даній фігурі відповідає вимірюванню на окремій тварині.

#### Приклад XII

Вживаність SCID-beige-мишей. ін'єктованих Daudi-клітинами пухлини і оброблених антитілами даного винаходу до CD40

В іншому експерименті мишей ін'єктують антитілом даного винаходу до CD40, або відповідним контрольним ізотипом (одна ін'єкція), внутрішньочеревинно, безпосередньо перед ін'єкцією клітинами пухлини. Дані антитіла ін'єктують в дозі 1 або 0,1мг/кг. Клітини пухлини (Daudi-клітини) ін'єктують внутрішньовенно в дозі  $5 \times 10^5$  клітин/тварина. Потім спостерігають за виживаністю тварини. Як показано на Фіг.14, всі антитіла до CD40, що випробовуються, пролонгують виживаність мишей, ін'єктованих клітинами пухлини щонайменше на шість днів.

У Таблиці 31 представлені ED<sub>50</sub> антитіл до CD40 в різних моделях солідної пухлини, описаних в Прикладі XI. У Таблиці 31 підсумована протипухлинна активність in vivo деяких антитіл даного винаходу до CD40 у SCID-мишей. Крім того, в даній таблиці приведені ED<sub>50</sub> антитіл до CD40 для моделі системної злоякісної пухлини Daudi, описаної вище в Прикладі XI.

Таблиця 31

ED<sub>50</sub> антитіл даного винаходу до CD40 при використанні різних in vivo-моделей пухлини у SCID-мишей

Антитіло	CD40(-) K562&T/DC підшкірно (мг/кг)	CD40(+) Raji&T/DC підшкірно (мг/кг)	CD40(+) Raji підшкірно (мг/кг)	CD40(+) Daudi внутрішньовенно (мг/кг)
21.4.1	0,005	0,0008	0,016	0,1
22.1.1	0,01	НВ	>1,0	0,1
23.25.1	1,0	НВ	>1,0	НВ
23.5.1	>1,0	НВ	1,0	НВ
24.2.1	1,0	НВ	>1,0	НВ
3.1.1	0,02	НВ	0,1	од
23.28.1	>1,0	НВ	0,1	0,1
23.29.1	0,009	НВ	>1,0	0,1
21.2.1	1,0	НВ	НВ	НВ

НВ= не визначено

#### Приклад XIII

Визначення констант (K<sub>D</sub>) спорідненості повнорозмірних людських антитіл до CD40 з допомогою BIAcore

Здійснюють вимірювання спорідненості виділених очищених антитіл з використанням приладу BIAcore 3000, відповідно до протоколів виробника.

Прилад для аналізу біосенсорної біоспецифічної взаємодії (BIAcore) використовує поверхневий плазмонний резонанс для вимірювання молекулярних взаємодій на сенсорному чипі CM5. Зміни в променезаломлюваних індексах між двома середовищами, склом і карбоксиметильованим декстраном, що викликається взаємодією молекул на

декстрановому боці даного сенсорного чипа, вимірюють і передають у вигляді змін в довільних одиницях відбивної здатності (RU), що деталізується в прикладених зауваженнях виробника.

Карбоксиметильована декстранова поверхня проточної кювети в сенсорному чипі активується при утворенні 0,05M N-гідроксисукциніміду в присутності 0,2M N-етил-N'-(диметиламіно)пропілкарбодіміду протягом 7хв. Злитий білок CD40-Ig (описаний в Прикладі I) в концентрації 5мкг/мл, в 10мМ Na-ацетаті, pH3,5, вручну вливають в проточну кювету зі швидкістю 5мкл/хв. і ковалентно іммобілізують на поверхні даної проточної кювети з необхідною кількістю RU. Дезактивування складних ефірів N-

гідроксисукциніміду, що не прореагували, здійснюють з використанням 1М етаноламінгідрохлориду, рН8,5. Після іммобілізації дані проточні кювети очищають від будь-якого матеріалу, що не прореагував, або що невдало зв'язався за допомогою п'яти відновлювальних додатків по 5мкл 50мМ NaOH до стабільного базового стану. Проточна кювета 2, з дуже щільною поверхнею, вимірює, приблизно, 300 RU після підготовки поверхні, а проточна кювета 3, з дуже низькою щільністю, вимірює, приблизно, 150 RU. У проточну кювету 1, з чистою поверхнею, що активується, під час іммобілізації замість антигену вливають 35мкл 10мМ Na-ацетатного буфера. Проточна кювета 4 містить, приблизно, 450 RU іммобілізованого CTLA4-Ig, стороннього контрольного антигену.

Послідовне розведення кожного антитіла готують в діапазоні концентрацій від 100мкг/мл до

0,1мкг/мл. Швидкість потоку встановлюють 5мкл/хв. і 25мкл даного зразка кожної концентрації вводять в сенсорний чип разом з регенераційним впливанням 5мкл 50мМ NaOH між кожною концентрацією антитіла, що вводиться. Отримані дані аналізують з використанням програмного забезпечення BIAevaluation 3.0.

Для зворотноорієнтованих кінетичних експериментів антитіло 21.4.1 іммобілізують на поверхні даного сенсорного чипа з використанням описаного вище протоколу. Антитіло проти KLN використовують як контрольна антитільна поверхня. Антиген, злитий білок CD40-Ig, вводять в діапазоні концентрацій від 100мкг/мл до 0,1мкг/мл.

У Таблиці 32 представлені результати вимірювання спорідненості для відповідних антитіл даного винаходу до CD40:

Таблиця 32

Вимірювання спорідненості для антитіл даного винаходу до CD40

Антитіло	$K_{on}$ (1/MS)	$K_{off}$ (1/S)	$K_D$ (M)
3.1.1	$1,12 \times 10^6$	$3,31 \times 10^{-5}$	$3,95 \times 10^{-11}$
10.8.3	$2,22 \times 10^5$	$4,48 \times 10^{-7}$	$2,23 \times 10^{-12}$
15.1.1	$8,30 \times 10^4$	$2,83 \times 10^{-7}$	$4,05 \times 10^{-12}$
21.4.1	$8,26 \times 10^4$	$2,23 \times 10^{-5}$	$3,48 \times 10^{-10}$
22.1.1	$9,55 \times 10^5$	$1,55 \times 10^{-4}$	$2,79 \times 10^{-10}$
23.25.1	$3,83 \times 10^5$	$1,65 \times 10^{-7}$	$7,78 \times 10^{-12}$
23.28.1	$7,30 \times 10^5$	$8,11 \times 10^{-5}$	$1,61 \times 10^{-10}$
23.29.1	$3,54 \times 10^5$	$3,90 \times 10^{-5}$	$7,04 \times 10^{-11}$

#### Приклад XIV

##### Картування епітопу антитіл до CD40

Аналіз зв'язування здійснюють з використанням виділеного очищенням білком А злитого антигену CD40-FC IgG1 людини. Злитий білок CD40-FC IgG1 людини клонують в Pfizer. Злитий білок CD40-IgG1 людини експресують в клітинній лінії ссавця і виділяють очищенням на колонці з білком А. Ступінь очищення отриманого злитого антигену оцінюють за допомогою SDS/ПААГ.

CD40 володіє структурою звичайного трансмембранного білка типу I. Його зріла молекула складається з 277 амінокислот. Позаклітинний домен CD40 складається з чотирьох TNFR-подібних багатих цистеїном доменів. [Див., наприклад, Neis Smith and Sprang, TIBS 23: 74-79 (1998); van Kooten and Banchereau, J. Leukocyte Biol. 67: 2-17 (2000); Stamenkovic et al, EMBO J. 8: 1403-1410 (1989)].

Зв'язування антитіл до CD40 з відновленим і невідновленим CD40 людини

Оскільки позаклітинний домен CD40 складається з чотирьох багатих цистеїном доменів, розрив внутрішньомолекулярних зв'язків за допомогою відновлювального агента може змінити реактивність антитіла. Щоб визначити, чи відбувається розрив внутрішньомолекулярних зв'язків за допомогою відновлювального агента, чи змінюється реактивність відібраних антитіл даного винаходу до CD40, виділений очищенням CD40-hlgG вносять в SDS/ПААГ (4-20%-ий гель) в невідновлювальних (NR) або в відновлювальних (R) умовах. SDS/ПААГ здійснюють по методу Laemmli з

використанням мінігелевої системи. Розділені білки переносять на нітроцелюлозну мембрану. Мембрани блокують з використанням PBS, що містить 5% (мас/об.) знежиреного молока щонайменше протягом 1 години до вияву, і зондують протягом 1 години за допомогою кожного антитіла. Антитіла до CD40 детектують з використанням кон'югованих з HRP антитіл кози проти імуноглобулінів людини (розведення 1:8000; № по каталогу A-8667 Sigma). Мембрани виявляють з використанням посиленої хемілюмінесценції (ECL®; Amersham Bioscience) відповідно до інструкцій виробника.

Потім отриманий вестерн-блот зондують чотирма антитілами даного винаходу до CD40: 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 і 24.2.1 (1мкг/мл) і потім кон'югованими з HRP антитілами кози проти IgG людини (розведення 1:8000). Результати даного експерименту подані на Фіг.15. Отримані результати свідчать, що 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 і 24.2.1 зв'язують невідновлений CD40 і не зв'язують відновлений CD40, таким чином, дані антитіла розпізнають конформаційний епітоп.

Зв'язування антитіл до CD40 з білками людини з видаленим CP40-доменом

Позаклітинна ділянка CD40 включає чотири TNFR-подібних домени, що повторюються (які називаються D1-D4). [Див., наприклад, Neis Smith and Sprang, TIBS 23: 74-79 (1998); van Kooten and Banchereau, J. Leukocyte Biol. 67: 2-17 (2000); Stamenkovic et al., EMBO J. 8: 1403-1410 (1989)]. На Фіг.16 представлені амінокислотні послідовності CD40-доменив D1-D4 миші і людини. Щоб дослідити внесок різних ділянок CD40-молекули в епі-



Таблиця 34

ІФА: зв'язування антитіл з CD40-делеційними мутантами

	CD4O(D1-D2) людини-6XH18	CD4O(D1-D3) людини-6XH18	CD40 людини -6XhHis
21.4.1	+	+	+
23.25.1	+	+	+
23.29.1	+	+	+
24.2.1	-	+	+
Антигіло проти His	+	+	+
Антигіло проти Rblg	HB	HB	HB

CD40-делеційні конструкції аналізують також в Вестерн-блот-аналізі. Отримані результати представлені в Таблиці 35. Результати ІФА показують, що в сайті зв'язування антитіл 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 і 24.2.1 беруть участь домени D1-D3. Дані результати показують також, що сайт зв'язування антитіл 21.4.1, 23.25.1 і 23.29.1 містить домени D1-D2, і що сайт зв'язування антитіла 24.2.1 містить домен D3.

Таблиця 35

Вестерн-блот: зв'язування антитіла з CD40-делеційним мутантом

	CD4O(D1-D3) людини-6Xhis	CD40 людини -6Xhis
21.4.1	+	+
23.25.1	+	+
23.29.1	+	+
24.2.1	+	+
Антигіло проти His	+	+
Антигіло проти Rblg	HB	HB

Зв'язування антитіл до CD40 з CD40 миші

Визначимо здатність антитіл 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 і 24.2.1 зв'язувати CD40 миші.

Для даного експерименту CD40 миші ампліфікують з кДНК В-клітин миші. Злитий білок CD4O(D1-D3) миші-6Xhis клонують в рCR3.1, в якому використовують для запуску транскрипції CMV-промотор. 5'-праймер, що використовується для клонування позаклітинного домену CD40 миші, являє собою: 5'-TGCAAGCTTCACCATGGTGTCTTGCCTCGGCTGTG-3'. 3'-праймер, що використовується для клонування D1-D3-доменив CD40 миші, являє собою: 5'-

GTCCTCGAGTCAGTGATGGTGATGGTGATGTGGGCAGGGATGACAGAc-3'. кДНК-конструкції миші і людини короткочасно трансфікують в 293F-клітини. Експресію рекомбінантного CD40 детектують з допомогою ІФА з використанням поліклональних антитіл проти CD40 миші і людини, антитіл проти His і антитілами до CD40 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 і 24.2.1. Результати цих експериментів представлені в Таблиці 36. Даний експеримент показує, що всі антитіла специфічні по CD40 лю-

дини і не реагують перехресно з CD40 миші.

Таблиця 36

Перехресна реактивність CD40 миші і людини

	CD4O(D1-D3) миші-6Xhis	CD4O(D1-D3) людини-6Xhis
21.4.1	Hi	Так
23.25.1	Hi	Так
23.29.1	Hi	Так
24.2.1	Hi	Так
Козячі антитіла проти CD40 людини	Hi	Так
Козячі антитіла проти CD40 миші	Так	Hi
Антигіло проти His	Так	Так

Зв'язування антитіл до CD40 з химерним людина/миша CD40

Оскільки антитіла 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 і 24.2.1 не зв'язують CD40 миші, конструюють химерні білки людина/миша CD40 для більш визначених картованих епітопів таких антитіл.

Для створення внутрішньорамкових злиттів химерних білків з CD40 людини і миші використовують унікальні сайти рестрикції на кордонах CD40-доменив в ідентичних позиціях кДНК CD40 людини і миші. Створюють різні кДНК-ові конструкції CD40 з використанням сайту рестрикції EcoRI на кінці домену 1 (нуклеотид 244, амінокислота 64) і сайту рестрикції BanI на кінці домену 2 (нуклеотид 330, амінокислота 94 (Фіг.17).

Різні CD40-домени ампліфікують за допомогою ПЛР і лігують. Даний підхід дозволяє замінити всілякі домени мишачого CD40 гомологічними домонами CD40 людини. Отримані конструкції подані на Фіг.18.

Потім визначають, чи здатні антитіла 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 і 24.2.1 зв'язати химерні миша/людина CD40-білки в ІФА. Результати даного експерименту представлені в Таблиці 37. Як показано в Таблиці 37, монАТ 21.4.1 і 23.25.1 розпізнають епітоп, який локалізований частково в D1 і частково в D2; монАТ 23.29.1 розпізнає епітоп, локалізований здебільшого, якщо не повністю, в D2; а монАТ 24.2.1 розпізнає епітоп, локалізований в D2 і D3.

Таблиця 37

Зв'язування антитіл з химерними CD40-білками

Антигіло	ЛюдD1	ЛюдD2	ЛюдD3	ЛюдD1, D2	ЛюдD2, D3	ЛюдD1, D3
21.4.1	Hi	Hi	Hi	Так	Hi	Hi
23.25.1	Hi	Hi	Hi	Так	Hi	Hi
23.29.1	Hi	Так	Hi	Так	Так	Hi
24.2.1	Hi	Hi	Hi	Hi	Так	Hi

Всі публікації і патентні заявки, що цитуються в даному описі, включені тут шляхом посилання, як якщо б кожна індивідуальна публікація або патентна заявка були конкретно і індивідуально вказані для включення шляхом посилання. Незважаючи на те, що вищевикладений винахід описаний в деякому відношенні детально у вигляді ілюстрацій

і прикладів, з метою внесення ясності в його розуміння рядовим фахівцем в даній галузі повинно бути очевидним в світлі вказівок даного винаходу, що в ньому можуть бути зроблені певні зміни і модифікації, що не виходять за рамки суті або змісту даного винаходу.

ФІГ.1 - Вирівнювання білкових послідовностей варіабельного домену антитіла з (GL) послідовностями клітин зародкової лінії (CDR підкреслені, мутації з клітин зародкової лінії виділені жирним шрифтом/відтінені)

## ФІГ.1А

Зародкова лінія V=A3/A19, J=JK1

3.1.1 DIVVTQSPFLS LPVTTPGEPAIS ICRSSQSLL HNGYNYLWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK  
 7.1.2 DIVVTQSPFLS LPVTTPGEPAIS ICRSSQSLL HNGYNYLWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK  
 GL DIVVTQSPFLS LPVTTPGEPAIS ICRSSQSLL HNGYNYLWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK

## ФІГ.1В

Зародкова лінія V=A3/A19, J=JK2

15.1.1 DIVVTQSPFLS LPVTTPGEPAIS ICRSSQSLL HNGYNYLWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK  
 GL DIVVTQSPFLS LPVTTPGEPAIS ICRSSQSLL HNGYNYLWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK

## ФІГ.1С

Зародкова лінія V=L5, J=JK4

10.8.3 DIVVTQSPFLS LPVTTPGEPAIS ICRSSQSLL HNGYNYLWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK  
 21.4.1 DIVVTQSPFLS LPVTTPGEPAIS ICRSSQSLL HNGYNYLWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK  
 GL DIVVTQSPFLS LPVTTPGEPAIS ICRSSQSLL HNGYNYLWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK

## ФІГ.1D

Зародкова лінія V=3-30+, D=D4+DIR3, J=JH6

3.1.1 QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS  
 GL QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS

## ФІГ.1Е

Зародкова лінія V=3-30+, D=DIR5+D1-26, J=JH6

7.1.2 QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS  
 GL QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS

## ФІГ.1F

Зародкова лінія V=4-35, D=DIR3, J=JH6

10.8.3 QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS  
 GL QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS

## ФІГ.1G

Зародкова лінія V=4-59, D=D4-23, J=JH4

15.1.1 QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS  
 GL QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS

## ФІГ.1H

Зародкова лінія V=1-02, D=DLR1, J=JH4

21.4.1 QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS  
 GL QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS

ФІГ.2 - Вирівнювання білкових послідовностей варіабельного домену антитіла з (GL) послідовностями клітин зародкової лінії (CDR підкреслені, мутації з клітин зародкової лінії виділені жирним шрифтом/відтінені)

## ФІГ.2А

Зародкова лінія V=A3/A19, J=JK1

22.1.1 DIVVTQSPFLS LPVTTPGEPAIS ICRSSQSLL HNGYNYLWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK  
 23.5.1 DIVVTQSPFLS LPVTTPGEPAIS ICRSSQSLL HNGYNYLWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK  
 23.29.1 DIVVTQSPFLS LPVTTPGEPAIS ICRSSQSLL HNGYNYLWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK

Зародкова клітина DIVVTQSPFLS LPVTTPGEPAIS ICRSSQSLL HNGYNYLWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK

## ФІГ.2В

Зародкова лінія V=A3/A19, J=JK3

21.2.1 DIVVTQSPFLS LPVTTPGEPAIS ICRSSQSLL HNGYNYLWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK  
 Зародкова клітина DIVVTQSPFLS LPVTTPGEPAIS ICRSSQSLL HNGYNYLWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK

## ФІГ.2С

Зародкова лінія V=A27, J=JK3

23.28.1 EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYLANWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK  
 23.29.1 EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYLANWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK  
 24.2.1 EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYLANWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK

Зародкова клітина EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYLANWYLOKPGQSPQLLIYLGSRRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEARDVGVYTCMQALQTPRTFGQGTVEIK

## ФІГ.2D

Зародкова лінія V=3-30+, D=DIR3+D6-19, J=JH4

21.2.1 QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS  
 Зародкова клітина QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS

## ФІГ.2Е

Зародкова лінія V=3-30+, D=D1-1, J=JH6

22.1.1 QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS  
 22.1.1R-C109A QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS

Зародкова клітина QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS

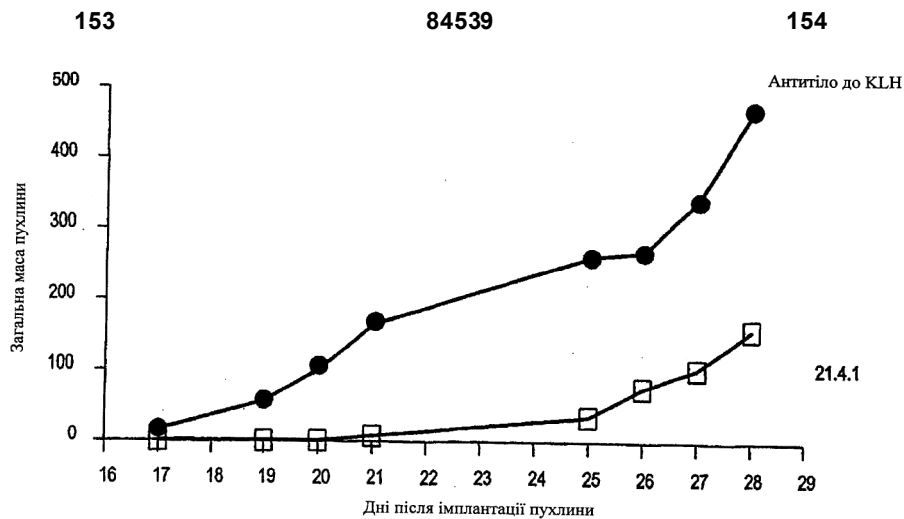
## ФІГ.2F

Зародкова лінія V=3-30+, D=D4-17, J=JH6

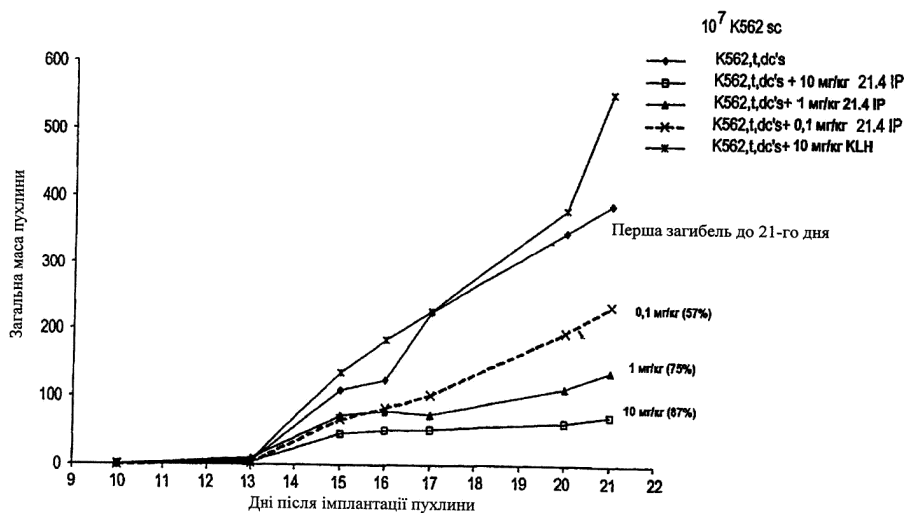
23.5.1 QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS  
 Зародкова клітина QVQLVSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSYSGHWVRQAPGKLEWVAIVSYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYTCAR--DGL--LQYXXIXHNDVWGGQTTVTSS

ΦΙΓ. 5

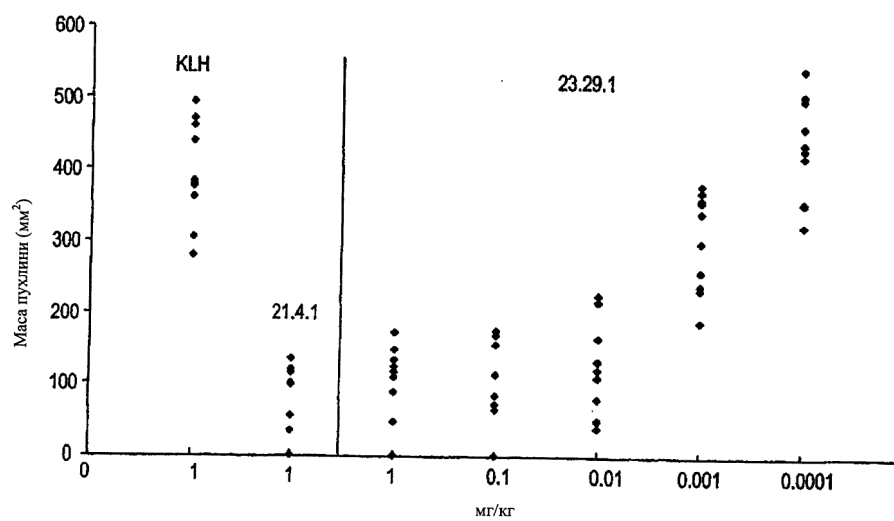




ФІГ. 6



ФІГ. 7

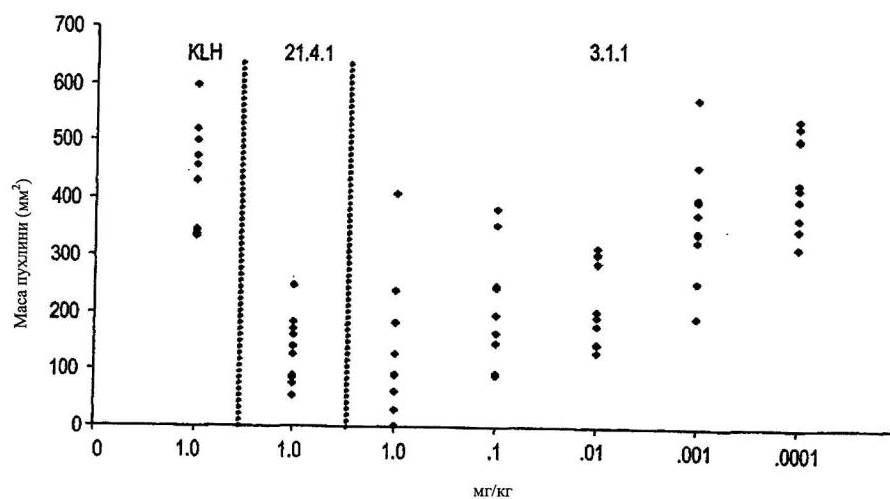


ФІГ. 8

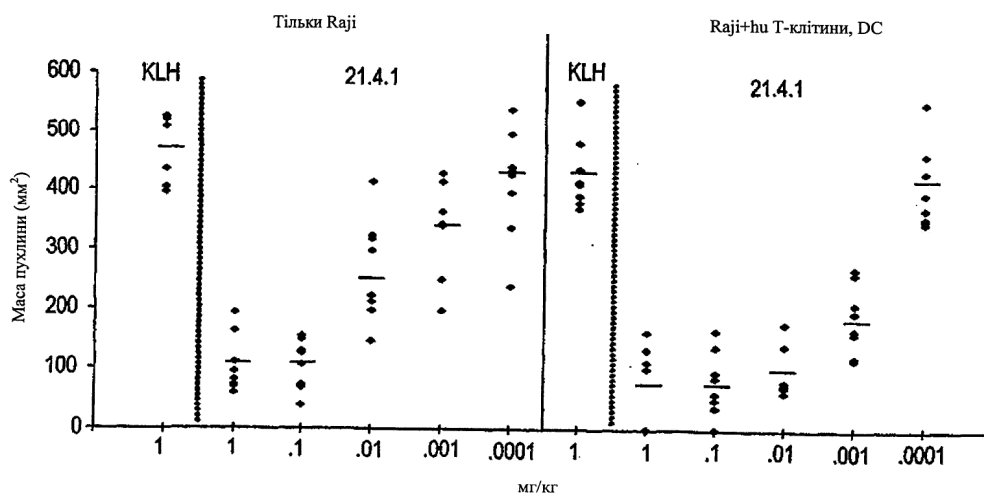
155

84539

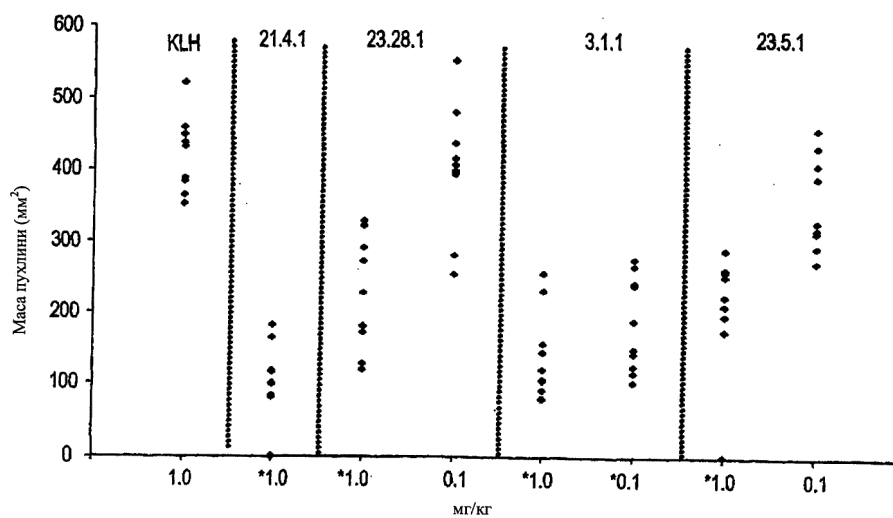
156



ФІГ. 9



ФІГ. 10



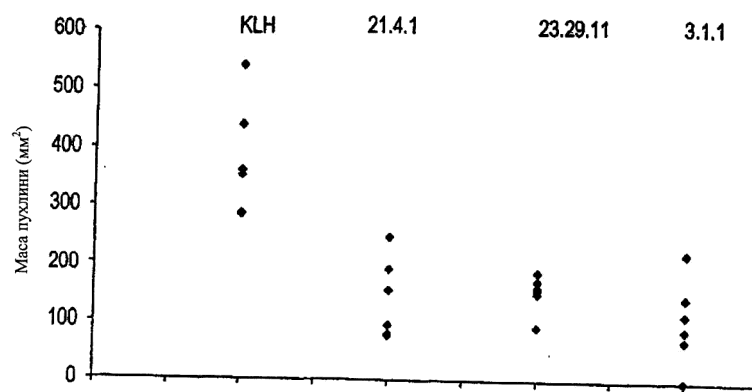
\* p = &lt;.0001

ФІГ. 11

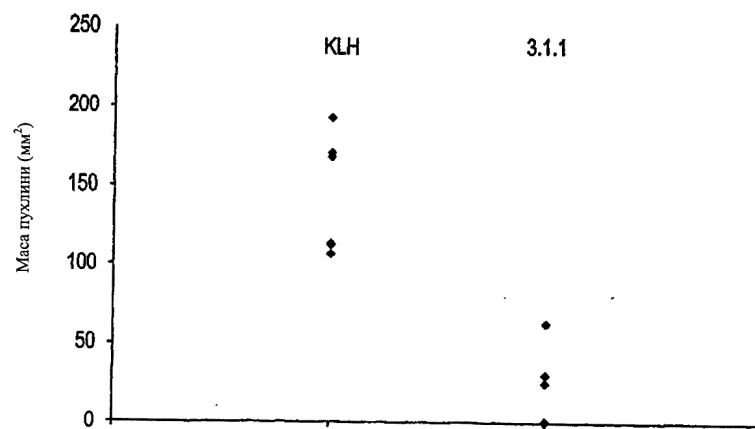
157

84539

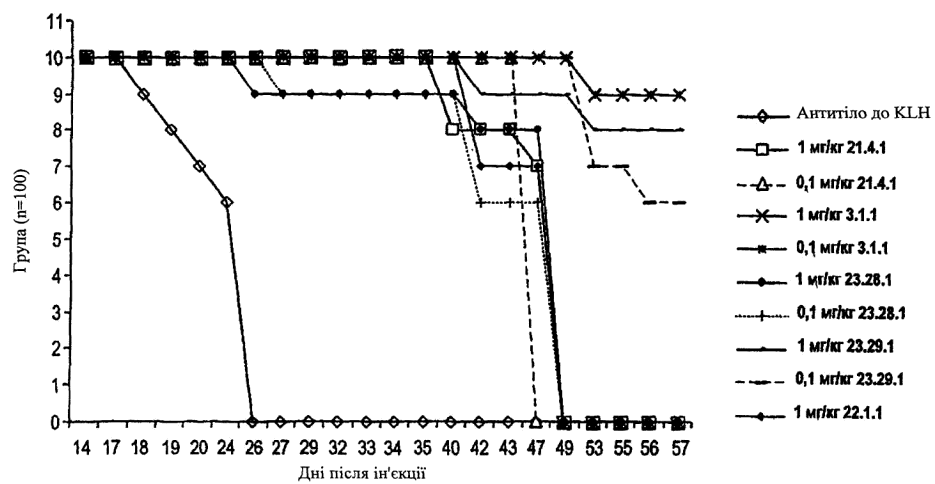
158



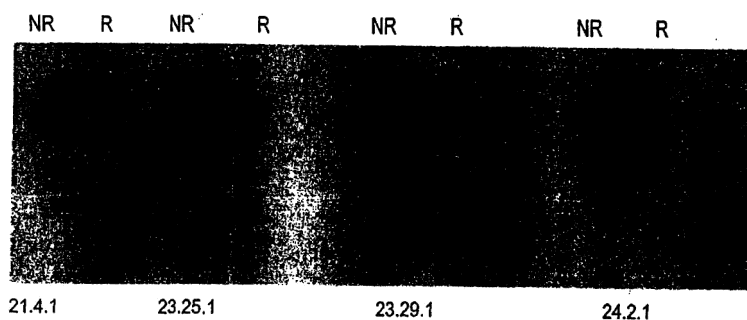
ФІГ. 12



ФІГ. 13



ФІГ. 14



Фиг. 15

## D1

Миша VTCSDKQYLHDGQCCDLCQPGSRLTSHCTALEKTQCH  
 Людина TACREKQYLINSQCCSLCQPGQKLVS DCTEFTETECL

## D2

Миша PCDSGEFSAQWNREIRCHQHRHCEPNQGLRVKKEGTAE SDTVCT  
 Людина PCGESEFLDTWNRETHCHQH KYCDPNLGLRVQQKGTSETDTICT

## D3

Миша CKEGQHCTSKDCEACAQHTPCIPGFGVMEMATETTDTVCHP  
 Людина CEEGWHCTSEACESCVLHRSCSPGFGVKQIATGVSDTICEP

## D4

Миша CPVGFFSNQSSLFEKCYPWTS CEDKNLEVLQKGTSQTNVICG  
 Людина CPVGFFSNVSSAFEKCHPWTS CETKDLVVQQAGTNKTDVVCG

Фиг. 16

Миша MVSLPRLCALWGCLLTAVHLGQCVTCS DKQYLHDGQCCDLCQPGSRLTSH  
 Людина MVRLPLQCVLWGCLLTAVHPEPPTACREKQYLINSQCCSLCQPGQKLVS D

Миша ALEKTQCHPCDSGE | FSAQWNREIRCHQHRHCEPNQGLRVKKEGT | AESD  
 Людина EFTETECLPCGESE | FLDTWNRETHCHQH KYCDPNLGLRVQQKGT | SETD

**EcoRI****BanI**

Миша TVCTCKEGQHCTSKDCEACAQHTPCIPGFGVMEMATETTDTVCHPCP HHHH  
 Людина TICTCEE GWHCTSEACESCVLHRSCSPGFGVKQIATGVSDTICEPCP HHHH

Фиг. 17

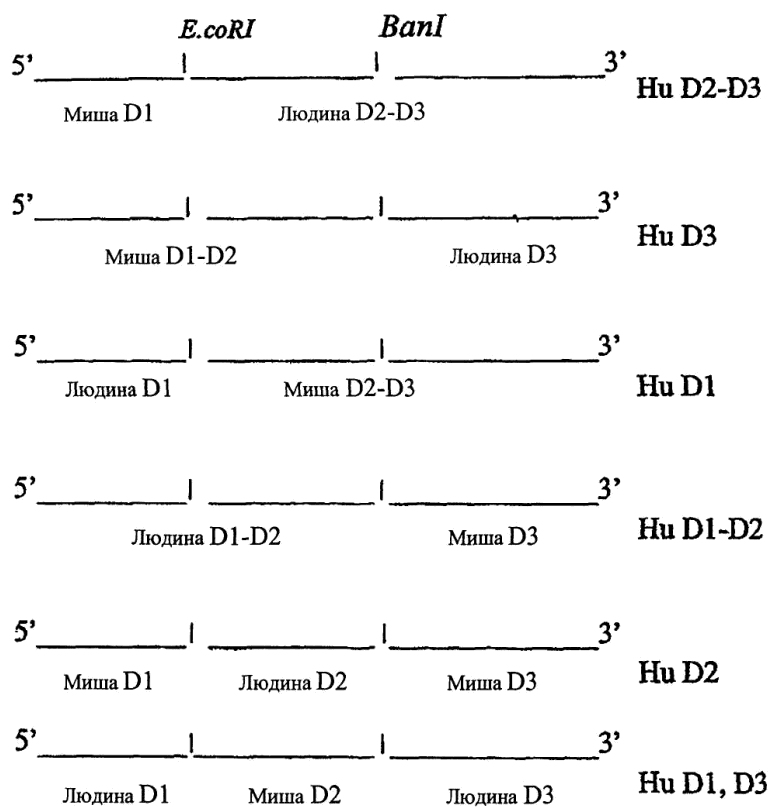


Fig. 18

## СПИСОК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> ABGENIX, INC.  
PFIZER PRODUCTS INC.

<120> Антитіла до CD40

<130> ABX-PF/3 PCT

<140> PCT/US02/36107

<141> 2002-11-08

<150> 60/348,980

<151> 2001-11-09

<160> 147

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 378

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 1  
 cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcaaagg atggaggtaa taaataccat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa tgcgctgtat 240  
 ctgcaaatga atagcctgag agttgaagac acggctgtgt attactgtgt gagaagaggg 300  
 catcagctgg ttctgggata ctactactac aacggctctgg acgtctgggg ccaagggacc 360  
 acggtcactg tctctca 378

<210> 2  
 <211> 126  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 2  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Ile Ser Lys Asp Gly Gly Asn Lys Tyr His Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ala Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Val Arg Arg Gly His Gln Leu Val Leu Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Gly  
 100 105 110  
 Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 3  
 <211> 336  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 3  
 gatattgtgc tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctcctgca ggtctagtca gacccctcttg tatagtaatg gatacaactt ttggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180  
 tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240  
 agcagattgg aggtgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300  
 cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaa 336

<210> 4  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

&lt;400&gt; 4

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Leu Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95  
 Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 1416

&lt;212&gt; DHK

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 5

atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60  
 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120  
 tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagt tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180  
 ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tcaaaggatg gaggtaataa ataccatgca 240  
 gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaatgc gctgtatctg 300  
 caaatgaata gcctgagagt tgaagacacg gctgtgtatt actgtgtgag aagagggcat 360  
 cagctgggtc tgggatacta ctactacaac ggtctggacg tctggggcca agggaccacg 420  
 gtcacgtct cctcagcctc caccaagggc ccatcggtct tccccctggc gccctgctcc 480  
 aggagcacct ccgagagcac agcgqccctg ggctgcctgg tcaaggacta ctccccgaa 540  
 ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgct ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccagct 600  
 gtectacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcaac 660  
 ttggcaccac agacctacac ctgcaacgta gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac 720  
 aagacagttg agcgcaaatg ttgtgtcgag tgcccaccgt gcccagcacc acctgtggca 780  
 ggaccgtcag tcttctctt cccccaaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccgacc 840  
 cctgaggtca cgtgcgtggg ggtggacgtg agccacgaag accccgaggt ccagttcaac 900  
 tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagaaa agccacggga ggagcagttc 960  
 aacagcacgt tccgtgtggg cagcgtcttc accgttgtgc accaggactg gctgaacggc 1020  
 aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa ggctcccgag ccccatcga gaaaaccatc 1080  
 tccaaaacca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgcccc atcccgagg 1140  
 gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta cccagcgac 1200  
 atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacacctccc 1260  
 atgctggact ccgacggctc cttcttctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1320  
 tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1380  
 acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aatga 1416

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 471

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 6

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly  
 1 5 10 15  
 Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln  
 20 25 30  
 Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
 35 40 45  
 Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Lys Asp Gly Gly Asn Lys Tyr His Ala  
 65 70 75 80  
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn  
 85 90 95  
 Ala Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val  
 100 105 110  
 Tyr Tyr Cys Val Arg Arg Gly His Gln Leu Val Leu Gly Tyr Tyr Tyr  
 115 120 125  
 Tyr Asn Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
 130 135 140  
 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser  
 145 150 155 160  
 Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp  
 165 170 175  
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr  
 180 185 190  
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr  
 195 200 205  
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln  
 210 215 220  
 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp  
 225 230 235 240  
 Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 245 250 255  
 Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 260 265 270  
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 275 280 285  
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 290 295 300  
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
 305 310 315 320



169

84539

170

Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp  
 325 330 335  
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
 340 345 350  
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg  
 355 360 365  
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys  
 370 375 380  
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 385 390 395 400  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 405 410 415  
 Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 420 425 430  
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser  
 435 440 445  
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
 450 455 460  
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 465 470

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 720

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 7

atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctgg atccagtggg 60  
 gatattgtgc tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 120  
 abctcctgca ggtctagtca ggcctcttg tatagtaatg gatacaactt ttgggattgg 180  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctccctgatct atttgggttc taatcggggc 240  
 tccggggctcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 300  
 agcagattgg aggtcaggga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 360  
 cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420  
 ttcactctcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480  
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cggccctccaa 540  
 tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600  
 agcagcaccg tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagleta cgcctgcgaa 660  
 gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 239

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 8

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser  
 1 5 10 15  
 Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro  
 20 25 30

Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
 35 40 45  
 Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys  
 50 55 60  
 Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala  
 65 70 75 80  
 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 85 90 95  
 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr  
 100 105 110  
 Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys  
 115 120 125  
 Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro  
 130 135 140  
 Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp  
 165 170 175  
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
 180 185 190  
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys  
 195 200 205  
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln  
 210 215 220  
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230 235

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 387

&lt;212&gt; DHK

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 9

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcaaagc atggagataa taaataccat 180  
 gcagactccg tgtggggccg attcaccatc tccagagaca attccaggag cagcctttat 240  
 ctgcaaatac acagcctgag agctgaggac acggctgtat attactgtgc gagaagaggc 300  
 atgggggtcta gtgggagccg tggggattac tactactact acggtttggg cgtctggggc 360  
 caagggacca cggtcaccgt ctctca 387

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 129

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 9

```

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt cgcagggt 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcaaag atggagataa taaataccat 180
gcagactccg tgtggggccg attcaccatc tccagagaca attccaggag cagcgtttat 240
ctgcaaatac acagcctgag agctgaggac acggctgtat attactgtgc gagaagaggc 300
atgggggtcta gtgggagccg tggggattac tactactact acggtttggg cgtctggggc 360
caagggaacca cggtcaccgt ctctca                                     387

```

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 129

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 10

```

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1              5              10              15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
              20              25              30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
              35              40              45
Ala Val Ile Ser Asn Asp Gly Asp Asn Lys Tyr His Ala Asp Ser Val
              50              55              60
Trp Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Ser Thr Leu Tyr
              65              70              75              80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
              85              90              95
Ala Arg Arg Gly Met Gly Ser Ser Gly Ser Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr
              100             105             110
Tyr Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
              115             120             125
Ser

```

&lt;210&gt; 11

&lt;211&gt; 336

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 11

```

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcttgca ggtctagtc gagcctcttg tatagtaatg gatacaactt tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatctc atttgggttc taatcggggc 180
tccgggggtc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggtgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300
cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaa                                     336

```

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 112

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 12

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95

Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 1425

&lt;212&gt; DHK

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 13

atggagtttg ggctgagctg gggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgctcag 60  
 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120  
 tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagc tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180  
 ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tcaaatgatg gagataataa ataccatgca 240  
 gactccgtgt ggggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaggagcac gctttatctg 300  
 caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtatatt actgtgagag aagaggcatg 360  
 gggctctagt ggagccgtgg ggattactac tactactacg gtttggacgt ctggggccaa 420  
 gggaccacgg tcaccgtctc ctcagcctcc accaagggcc catcggtctt cccctggcg 480  
 cctgctcca ggagcacctc cgagagcaca gcggccctgg gctgcctggg caaggactac 540  
 ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac tcaggcgctc tgaccagcgg cgtgcacacc 600  
 ttcccagctg tcctacagtc ctcaggactc tactccctca gcagcgtggg gaccgtgcc 660  
 tccagcaact tcggcaccca gacctacacc tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc 720  
 aaggtggaca agacagttga gcgcaaatgt tgtgtcagat gccaccctg cccagcacca 780  
 cctgtggcag gaccgtcagt ctctctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc 840  
 tcccggaccc ctgaggtcac gtgcgtgggt gtggacgtga gccacgaaga ccccgagggtc 900  
 cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccacggggag 960  
 gagcagttca acagcacgtt ccgtgtgggt agcgtcctca ccgttgtgca ccaggactgg 1020  
 ctgaacggca aggagtacaa gtgcaagggt tccaacaaag gcctcccagc ccccatcgag 1080  
 aaaaccatct ccaaaaccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca 1140  
 tcccgggagg agatgaccaa gaaccagggt agcctgacct gcctgggtcaa aggtctctac 1200  
 cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 1260  
 acacctccca tgetggactc cgacggctcc ttctctctct acagcaagct caccgtggac 1320  
 aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac 1380  
 aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aatga 1425

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 474

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 14

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly  
 1 5 10 15  
 Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln  
 20 25 30  
 Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
 35 40 45  
 Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Asn Asp Gly Asp Asn Lys Tyr His Ala  
 65 70 75 80  
 Asp Ser Val Trp Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Ser  
 85 90 95  
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val  
 100 105 110  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Met Gly Ser Ser Gly Ser Arg Gly Asp  
 115 120 125  
 Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val  
 130 135 140  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 145 150 155 160  
 Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 165 170 175  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 180 185 190  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 195 200 205  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe  
 210 215 220  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr  
 225 230 235 240  
 Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro  
 245 250 255  
 Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 260 265 270  
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 275 280 285  
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp  
 290 295 300  
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 305 310 315 320

179

84539

180

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val  
 325 330 335  
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 340 345 350  
 Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly  
 355 360 365  
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu  
 370 375 380  
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 385 390 395 400  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 405 410 415  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 420 425 430  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 435 440 445  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 450 455 460  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 465 470

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 720

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 15

atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctgg atccagtgagg 60  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 120  
 atctcctgca ggtctagtc gagcctcttg tatagtaatg gatacaactt tttggattgg 180  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctcttgatct atttgggttc taatcggggc 240  
 tccggggctc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 300  
 agcagagtgg aggtgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 360  
 cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420  
 ttcattcttc gccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480  
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cggcctccaa 540  
 tgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600  
 agcagcacc tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660  
 gtcacccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 239

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 16

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser  
 1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro  
 20 25 30

Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
                   35                  40                  45  
 Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys  
           50                  55                  60  
 Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala  
   65                  70                  75                  80  
 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
                   85                  90                  95  
 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr  
                  100                 105                 110  
 Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys  
          115                 120                 125  
 Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro  
   130                 135                 140  
 Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu  
 145                 150                 155                 160  
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp  
                  165                 170                 175  
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
          180                 185                 190  
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys  
          195                 200                 205  
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln  
   210                 215                 220  
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225                 230                 235

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 357

&lt;212&gt; DHK

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 17

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
 acctgcactg tctctggtgg ctecatcagt agttactact ggatctggat ccggcagccc 120  
 gccgggaagg gactggaatg gattgggcgt gtctatacca gtgggagcac caactacaac 180  
 cctccctca agagtcgagt caccatgtca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240  
 aagctgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gccgtgtatt actgtgagag agatggtctt 300  
 tacagggggg acggtatgga cgtctggggc caagggacca cggtcaccgt ctcctca 357

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 18

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
   1                  5                  10                  15



183

84539

184

```

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
      20                25                30

Tyr Trp Ile Trp Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
      35                40                45

Gly Arg Val Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
      50                55                60

Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
      65                70                75                80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
      85                90                95

Arg Asp Gly Leu Tyr Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
      100                105                110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
      115

```

<210> 19  
 <211> 321  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

```

<400> 19
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gacctattag agctgggttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatttattct gcctccggtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag actgacagtt tcccgctcac tttcggcggc 300
gggaccaagg tggagatcaa a                                     321

```

<210> 20  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

```

<400> 20
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
  1                5                10                15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Pro Ile Ser Ser Trp
      20                25                30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
      35                40                45

Tyr Ser Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
      50                55                60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
      65                70                75                80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asp Ser Phe Pro Leu
      85                90                95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
      100                105

```



&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 1395

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 21

```

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cggagaccct gtccctcacc 120
tgcactgtct ctggtggctc catcagtagt tactactgga tctggatccg gcagcccggc 180
gggaagggaac tggaatggat tgggcgtgtc tataccagtg ggagcaccaa ctacaacccc 240
tccctcaaga gtcgagtcac catgtcagta gacacgtcca agaaccagtt ctccctgaag 300
ctgagctctg tgaccgccgc ggacacggcc gtgtattact gtgcgagaga tggctctttac 360
aggggggtacg gtatggacgt ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc ctgagcctcc 420
accaaggggcc catcgtgtct cccctggcg ccctgtcca ggagcacctc cgagagcaca 480
gcggccctgg gctgcctggg caaggactac ttccccgaac cggtgacggg gtcgtggaac 540
tcaggcgctc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccagctg tctacagtc ctcaggactc 600
tactccctca gcagcgtggg gaccgtgccc tccagcaact tcggcaccca gacctacacc 660
tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agacagttga gcgcaaagt 720
tgtgtcagat gccaccgtg cccagcacca cctgtggcag gaccgtcagt ctctctcttc 780
cccccaaac ccaaggacac cctcatgatc tcccggacc ctgaggtcac gtgcgtgggtg 840
gtggacgtga gccacgaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag 900
gtgcataatg ccaagacaaa gccacgggag gagcagttca acagcacgtt ccgtgtgggtc 960
agcgtcctca ccgttgtgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaagggtc 1020
tccaacaaag gcctccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaaaccaa agggcagccc 1080
cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggagg agatgaccaa gaaccagggtc 1140
agcctgacct gcctgggtcaa aggttcttac cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc 1200
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acacctccca tgctggactc cgacggctcc 1260
ttcttctct acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc 1320
tcatgtccg tgatgcatga ggtctgtcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg 1380
tctccgggta aatga                                     1395

```

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 464

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 22

```

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1             5             10            15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
      20             25            30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile
      35             40            45

Ser Ser Tyr Tyr Trp Ile Trp Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu
      50             55            60

Glu Trp Ile Gly Arg Val Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro
      65             70            75            80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
      85             90            95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
      100            105            110

Tyr Cys Ala Arg Asp Gly Leu Tyr Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp
      115            120            125

```

188

Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro
130							135				140				
Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr
145					150					155					160
Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
				165					170					175	
Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
			180					185					190		
Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
		195					200					205			
Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp
	210					215					220				
His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys
225					230					235					240
Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser
				245					250					255	
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
			260					265					270		
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
		275					280					285			
Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
						295					300				
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val
305					310					315					320
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr
				325					330					335	
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr
			340					345					350		
Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu
		355					360					365			
Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys
						375					380				
Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser
385					390					395					400
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp
				405					410					415	
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser
			420					425					430		

189

84539

190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
 435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 705

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 23

```

atgaggctcc ctgctcagct cctggggctc ctgctgctct ggttcccagg ttccagatgc 60
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120
atcacttgct gggcgagtcg gcctattagc agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 180
gggaaagccc ctaaactcct gatttattct gcctccggtt tgcaaagtgg ggtcccatca 240
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 300
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag actgacagtt tcccgctcac ttccggcggc 360
gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcacccat ctgtcttcat ctcccgcca 420
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gtttag 705

```

&lt;210&gt; 24

&lt;211&gt; 234

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 24

```

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Phe Pro
  1          5          10          15

Gly Ser Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser
          20          25          30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Pro
          35          40          45

Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
          50          55          60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
          65          70          75          80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
          85          90          95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asp
          100          105          110

Ser Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
          115          120          125

```

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140  
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160  
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 195 200 205  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 210 215 220  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 363

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 25

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcaga agttactact ggacctggat ccggcagccc 120  
 ccagggaagg gactggagtg gattggatat atctattaca gtgggagcac caactacaat 180  
 cctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacatgt ccaagaacca gttctccctg 240  
 aagctgagtt ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtttatt actgtgcgag aaagggtgac 300  
 tacggtggta attttaacta ctttcaccag tggggccagg gaacctggt caccgtctcc 360  
 tca 363

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 121

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 26

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Ser Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60  
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Met Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

Arg Lys Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Phe Asn Tyr Phe His Gln Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 27

<211> 336

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 27

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60  
atctctctgca ggtctagtca gagcctccta cataactaatg gatacaacta ttctgattgg 120  
tacctgcaga agccagggca gtctccacaa ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180  
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240  
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaaactccg 300  
tacagttttg gccaggggac caagctggag atcaaaa 336

<210> 28

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr  
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Phe Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 29

<211> 1401

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

&lt;400&gt; 29

```

atgaaacatc tgtggttctt cttctctctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cggagaccct gtccctcacc 120
tgcactgtct ctggtggctc catcagaagt tactactgga cctggatccg gcagccccc 180
gggaagggac tggagtggat tggatatatc tattacagtg ggagcaccaa ctacaatccc 240
tccttcaaga gtcgagtcac catatcagta gacatgtcca agaaccagtt ctccctgaag 300
ctgagttctg tgaccgctgc ggacacggcc gtttattact gtgcgagaaa gggtgactac 360
ggtggtaatt ttaactactt tcaccagtgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 420
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 480
agcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggg gacgggtgtc 540
tggaaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacacettcc cagctgtcct acagtctc 600
ggactctact cctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg caccagacc 660
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 720
aaatgttggt tgcagtgccc accgtgccc gacccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 780
ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc 840
gtggtggtgg acgtgagtc cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 900
gtggagggtgc ataagccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 960
gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 1020
aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaagg 1080
cagccccgag aaccacaggt gtacacctg ccccatccc gggagagat gaccaagaac 1140
caggtcagcc tgacctgct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcagggtggc gcaggggaac 1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380
tcctgtctc cgggtaaatg a

```

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 466

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 30

```

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
  1             5             10             15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
      20             25             30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile
      35             40             45

Arg Ser Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
      50             55             60

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro
      65             70             75             80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Met Ser Lys Asn Gln
      85             90             95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
      100            105            110

Tyr Cys Ala Arg Lys Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Phe Asn Tyr Phe His
      115            120            125

```

Gln Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys  
 130 135 140  
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu  
 145 150 155 160  
 Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro  
 165 170 175  
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr  
 180 185 190  
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val  
 195 200 205  
 Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn  
 210 215 220  
 Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg  
 225 230 235 240  
 Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly  
 245 250 255  
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 260 265 270  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
 275 280 285  
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 290 295 300  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg  
 305 310 315 320  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 325 330 335  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 340 345 350  
 Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 355 360 365  
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 370 375 380  
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 385 390 395 400  
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met  
 405 410 415  
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
 420 425 430



Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
 435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
 450 455 460

Gly Lys  
 465

<210> 31  
 <211> 720  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 31  
 atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctgg atccagtggg 60  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 120  
 atctcctgca ggtctagtc gagcctccta cataactaatg gatacaacta ttctgattgg 180  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacaa ctctgatct atttgggttc taatcggggc 240  
 tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 300  
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 360  
 tacagttttg gccaggggac caagctggag atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420  
 ttcactctcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480  
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa 540  
 tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagctc 600  
 agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa 660  
 gtcacccatc agggcctgag ctgcccgtc acaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 32  
 <211> 239  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 32  
 Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser  
 1 5 10 15  
 Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro  
 20 25 30  
 Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
 35 40 45  
 Leu Leu His Thr Asn Gly Tyr Asn Tyr Phe Asp Trp Tyr Leu Gln Lys  
 50 55 60  
 Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala  
 65 70 75 80  
 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 85 90 95  
 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr  
 100 105 110



201

84539

202

Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys  
 115 120 125  
 Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro  
 130 135 140  
 Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp  
 165 170 175  
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
 180 185 190  
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys  
 195 200 205  
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln  
 210 215 220  
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230 235

<210> 33  
 <211> 361  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 33  
 cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60  
 tctctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatgtca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atgtcatatg atggaagtag taaatactat 180  
 gcaaactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcaaataa acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatggg 300  
 ggtaaagcag tgccctgggtcc tgactactgg ggccaggga tccctgggtcac cgtctcctca 360  
 g 361

<210> 34  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 34  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Met Ser Tyr Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asn Ser Val  
 50 55 60

203

84539

204

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Asp Gly Gly Lys Ala Val Pro Gly Pro Asp Tyr Trp Gly Gln  
100 105 110

Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

&lt;210&gt; 35

&lt;211&gt; 337

&lt;212&gt; AHK

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 35

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60  
atctcctgca ggtctagtca gagggttctg tatagtaatg gatacaacta tttggattgg 120  
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcggggc 180  
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240  
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagtttt acaaactcca 300  
ttcactttcg gccctgggac caaagtggat atcaaac 337

&lt;210&gt; 36

&lt;211&gt; 112

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 36

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser  
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Val  
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
100 105 110

&lt;210&gt; 37

&lt;211&gt; 1398

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 37

```

atggagtttg ggctgagctg ggttttcttc gttgtctttt taagagggtgt ccagtgtcag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggagggtccct gagactctcc 120
tgtcagacct ctggattcac cttcagtagc tatgtcatgc actgggtccg ccagggtcca 180
ggcaagggggc tggagtgggt ggcagttatg tcatatgatg gaagtagtaa atactatgca 240
aactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
caaataaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtgtatt actgtgctgag agatgggggt 360
aaagcagtgct ctggtcctga ctactggggc cagggaatcc tggtcaccgt ctctcagcc 420
tccaccaagg gcccatcggt ctccccctg gcgcccctgct ccaggagcac ctccgagagc 480
acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccgggtgac ggtgtcgtgg 540
aactcaggcg ctctgaccag cggcgtgcac accttcccag ctgtcctaca gtcctcagga 600
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca acttcggcac ccagacctac 660
acctgcaacg tagatcaca gcccagcaac accaagggtg acaagacagt tgagcgcaaa 720
tgtgtgtcgt agtgcccacc gtgcccagca ccactgtgtg caggaccgtc agtcttcttc 780
ttcccccaa aacccaagga cacctcatg atctcccga cccctgaggt cacgtgcgtg 840
gtggtggacg tgagccacga agaccccgag gtccagttca actggtacgt ggacggcgtg 900
gaggtgcata atgccaagac aaagccacgg gaggagcagt tcaacagcac gttcctgtg 960
gtcagcgtcc tcaccgttgt gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgaag 1020
gtctccaaca aaggcctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaaaac caaagggcag 1080
ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1140
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc taccacagcg acatcgccgt ggagtgggag 1200
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacacctc ccatgctgga ctccgacggc 1260
tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1320
ttctcatgct cgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1380
ctgtctccgg gtaaatga

```

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 465

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 38

```

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
 1             5             10             15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
      20             25             30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
      35             40             45

Ser Ser Tyr Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
      50             55             60

Glu Trp Val Ala Val Met Ser Tyr Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala
      65             70             75             80

Asn Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
      85             90             95

Thr Leu Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
      100            105            110

```

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gly Gly Lys Ala Val Pro Gly Pro Asp Tyr  
 115 120 125  
 Trp Gly Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly  
 130 135 140  
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser  
 145 150 155 160  
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val  
 165 170 175  
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe  
 180 185 190  
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val  
 195 200 205  
 Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val  
 210 215 220  
 Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys  
 225 230 235 240  
 Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro  
 245 250 255  
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 260 265 270  
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 275 280 285  
 Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 290 295 300  
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val  
 305 310 315 320  
 Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 325 330 335  
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 340 345 350  
 Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 355 360 365  
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 370 375 380  
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 385 390 395 400  
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu  
 405 410 415

209

84539

210

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 420 425 430

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 435 440 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 450 455 460

Lys  
 465

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 720

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 39

```

atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctgg atccagtggg 60
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 120
atctcctgca ggtctagtca gagtgttctg tatagtaatg gatacaacta tttggattgg 180
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 240
tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 300
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagtttt acaaactcca 360
ttcactttcg gccctgggac caaagtggat atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgctg 480
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 540
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600
agcagcaccg tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa 660
gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

```

&lt;210&gt; 40

&lt;211&gt; 239

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 40

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser  
 1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro  
 20 25 30

Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
 35 40 45

Val Leu Tyr Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys  
 50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala  
 65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 85 90 95

211

84539

212

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr  
100 105 110

Cys Met Gln Val Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys  
115 120 125

Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro  
130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu  
145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp  
165 170 175

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys  
195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln  
210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
225 230 235

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 378

&lt;212&gt; DHK

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 41

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
tcttgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120  
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaaccctg acagtgggtg cacaaactat 180  
gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240  
atggagctga acaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300  
cccctaggat attgtactaa tgggtgtatgc tcctactttg actactgggg ccaggggaacc 360  
ctggtcaccg tctctca 378

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 126

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 42

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr  
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr  
100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

<210> 43

<211> 321

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 43

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgtc gggcgagtc gggatattac agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120  
gggaaagccc ctaacctcct gatctatact gcatccactt tacaaagtgg ggtcccatca 180  
agggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcaacct 240  
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacattt tcccgtcac ttctggcgga 300  
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 44

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp  
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 45  
 <211> 1416  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 45  
 atggactgga cctggaggat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccaactcccag 60  
 gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgagggt aagaagcctg gggcctcagt gaaggtctcc 120  
 tgcaaggctt ctggatacac cttcaccggc tactatatgc actgggtgcg acaggccccct 180  
 ggacaagggc ttgagtggat gggatggatc aacctgaca gtggtggcac aaactatgca 240  
 cagaagtttc agggcagggt caccatgacc agggacacgt ccatcagcac agcctacatg 300  
 gagctgaaca ggctgagatc tgacgacacg gccgtgtatt actgtgagag agatcagccc 360  
 ctaggatatt gtactaatgg tgtatgctcc tactttgact actggggcca gggaaacctg 420  
 gtcaccgtct cctcagcctc caccaagggt ccatcggtct tccccctggc gccctgctcc 480  
 aggagcacct ccgagagcac agcggccctg ggctgctggt tcaaggacta cttccccgaa 540  
 ccggtgacgg tgtcgtggaa ctccaggcgt ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccagct 600  
 gtcctacagt cctcaggact ctactccctc ageagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcaac 660  
 ttcggcaccc agacctacac ctgcaacgta gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac 720  
 aagacagttg agcgcaaatg ttgtgtcggag tgcccaccgt gccagcacc acctgtggca 780  
 ggaccgtcag tcttctctt cccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccgacc 840  
 cctgaggtca cgtgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag acccctgagt ccagttcaac 900  
 tgggtacgtg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagaca agccacggga ggagcagttc 960  
 aacagcacgt tccgtgtggt cagcgtcctc accgttgtgc accaggactg gctgaacggc 1020  
 aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa ggctctccag ccccatcga gaaaaccatc 1080  
 tccaaaacca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca cctgcccc atcccgagg 1140  
 gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgctgtgtca aaggcttcta cccagcgac 1200  
 atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacacctccc 1260  
 atgctggact ccgacggctc cttcttctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1320  
 tggcagcagg ggaacgtctt cttatgctcc gtgatgcatg aggcctctga caaccactac 1380  
 acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatga 1416

<210> 46  
 <211> 471  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 46  
 Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly  
 1 5 10 15  
 Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
 20 25 30  
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
 35 40 45  
 Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala  
 65 70 75 80  
 Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser  
 85 90 95  
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val  
 100 105 110



Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val  
 115 120 125  
 Cys Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
 130 135 140  
 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser  
 145 150 155 160  
 Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp  
 165 170 175  
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr  
 180 185 190  
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr  
 195 200 205  
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln  
 210 215 220  
 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp  
 225 230 235 240  
 Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 245 250 255  
 Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 260 265 270  
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 275 280 285  
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 290 295 300  
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
 305 310 315 320  
 Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp  
 325 330 335  
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
 340 345 350  
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg  
 355 360 365  
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys  
 370 375 380  
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 385 390 395 400  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 405 410 415

219

84539

220

Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
420 425 430

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser  
435 440 445

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
450 455 460

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
465 470

&lt;210&gt; 47

&lt;211&gt; 705

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 47

```

atgaggctcc ctgctcagct cctggggctc ctgctgctct ggttccagg ttccagatgc 60
gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120
atcacttgtc gggcgagtc gggatattac agctgggttag cctgggatca gcagaaacca 180
gggaaagccc ctaacctcct gatctatact gcatccactt tacaaagtgg ggtcccatca 240
aggttcagcg' gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcaacct 300
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacattt tcccgtcac tttcggcgga 360
gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 420
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 705

```

&lt;210&gt; 48

&lt;211&gt; 234

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 48

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Phe Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser  
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly  
35 40 45

Ile Tyr Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
50 55 60

Asn Leu Leu Ile Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser  
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
85 90 95

221

84539

222

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn  
 100 105 110  
 Ile Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125  
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140  
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160  
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 195 200 205  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 210 215 220  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 373

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 49

cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60  
 tctctgtgcag cctctggatt caccttcagt cgtatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatctg atggaggtaa taaatactat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtac gagaagaggg 300  
 actggaaaga ctactacca ctactgtggt atggacgtct ggggcccaagg gaccacgggtc 360  
 accgtctctc cag 373

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 124

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 50

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ala Val Ile Ser Ser Asp Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Arg Arg Gly Thr Gly Lys Thr Tyr Tyr His Tyr Cys Gly Met Asp  
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 51

<211> 337

<212> DHK

<213> Homo sapiens

<400> 51

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccggtca cccctggaga gccggcctcc 60  
atctctctgca ggtctagtca gagcctcctg tataagtaatg gatataacta tttggattgg 120  
tacctgcaga agccagggca gtctccacac ctctgatct atttgggttc taatcggggc 180  
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggttcaggca ctgattttac actgaaaatc 240  
agcagagtgg aggctgagga tggtgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaaactct 300  
cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaac 337

<210> 52

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

Pro His Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 53  
 <211> 1410  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 53  
 atggagtttg ggctgagctg ggttttctctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60  
 gtgcaactgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggagggtccct gagactctcc 120  
 tgtgcagcct ctggattcac cttcagtcgc tatggcatgc actgggtccg ccagggtcca 180  
 ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tcatctgatg gaggtaataa atactatgca 240  
 gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300  
 caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtgtatt actgtacgag aagaggggact 360  
 ggaaagactt actaccacta ctgtggtatg gacgtctggg gccaaaggac cacgggtcacc 420  
 gtctcctcag cctccaccaa gggcccatcg gtcttccccc tggcgccctg ctccaggagc 480  
 acctccgaga gcacagcggc cctgggctgc ctgggtcaagg actacttccc cgaaccgggtg 540  
 acgggtgtcgt ggaactcagg cgctctgacc agcggcgtgc acaccttccc agctgtccta 600  
 cagtcctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag caacttcggc 660  
 acccagacct acacctgcaa cgtagatcac aagccagca acaccaagggt ggacaagaca 720  
 gttgagcgca aatgttgtgt cgagtgtcca ccgtgtccag caccacctgt ggcaggaccg 780  
 tcagtcttcc tcttccccc aaaacccaag gacacctca tgatctccc gacctctgag 840  
 gtcacgtgcg tgggtgtgga cgtgagccac gaagaccccg aggtccagtt caactgggtac 900  
 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccac gggaggagca gttcaacagc 960  
 acgttccgtg tggtcagcgt cctcaccgtt gtgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 1020  
 tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccagccccc tggagaaaac catctccaaa 1080  
 accaaagggc agccccgaga accacaggtg tacacctgc ccccatcccc ggaggagatg 1140  
 accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaagggt tctaccccag cgacatcgcc 1200  
 gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacacc tcccatgctg 1260  
 gactccgacg gctccttctt cctctacagc aaagtcaccg tggacaagag cagggtggcag 1320  
 caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggtc tgcaacaacca ctacacgcag 1380  
 aagagcctct cctgtctctc gggtaaatga 1410

<210> 54  
 <211> 469  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 54  
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly  
 1 5 10 15  
 Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln  
 20 25 30  
 Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
 35 40 45  
 Ser Arg Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Ser Asp Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala  
 65 70 75 80  
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn  
 85 90 95  
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val  
 100 105 110

Tyr	Tyr	Cys	Thr	Arg	Arg	Gly	Thr	Gly	Lys	Thr	Tyr	Tyr	His	Tyr	Cys
		115						120					125		
Gly	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala
	130					135					140				
Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser
145					150					155					160
Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe
				165					170					175	
Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly
			180					185					190		
Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu
		195					200					205			
Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr
	210					215					220				
Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr
225					230					235					240
Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro
				245					250					255	
Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
			260					265					270		
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
		275					280					285			
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
	290					295					300				
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser
305					310					315					320
Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu
				325					330					335	
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala
			340					345					350		
Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro
		355					360					365			
Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln
				370		375					380				
Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala
385					390					395					400
Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr
				405					410					415	

Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu  
 420 425 430

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser  
 435 440 445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser  
 450 455 460

Leu Ser Pro Gly Lys  
 465

<210> 55

<211> 720

<212> DHK

<213> Homo sapiens

<400> 55

atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctg atccagtggg 60  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgccgtca cccctggaga gccggcctcc 120  
 atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg tatagtaatg gatataacta ttgggattgg 180  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacac ctccctgatct atttgggttc taatcggggc 240  
 tccggggctcc ctgacaggtt cagtggcagt gggtcaggca ctgattttac actgaaaatc 300  
 agcagagtgg aggtctagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 360  
 cggacgttcg gccaaaggac caagggtgaa atcaaacgaa ctgtgggtgc accatctgtc 420  
 ttcattctcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480  
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa 540  
 tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600  
 agcagcaccy tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660  
 gtcacccatc agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 56

<211> 239

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser  
 1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro  
 20 25 30

Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
 35 40 45

Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys  
 50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro His Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala  
 65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 85 90 95

231

84539

232

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr  
 100 105 110  
 Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys  
 115 120 125  
 Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro  
 130 135 140  
 Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp  
 165 170 175  
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
 180 185 190  
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys  
 195 200 205  
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln  
 210 215 220  
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230 235

&lt;210&gt; 57

&lt;211&gt; 376

&lt;212&gt; DHK

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 57

cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgtag cctctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaatt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 gtgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacgcggt 300  
 cactacggga gggattacta ctctactac ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360  
 gtcaccgtct cctcag 376

&lt;210&gt; 58

&lt;211&gt; 125

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 58

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45



Ala Ile Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

Val Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Arg Gly His Tyr Gly Arg Asp Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu  
100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

<210> 59

<211> 337

<212> DHK

<213> Homo sapiens

<400> 59

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60  
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg cctggtaatg gatacaacta ttggattgg 120  
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggccc 180  
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240  
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaaactcct 300  
cggacgttcg gccaaagggac caaggtggaa atcaaac 337

<210> 60

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Pro Gly  
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 61  
 <211> 1413  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 61  
 atggagtttg ggctgagctg ggttttcttc gttgctcttt taagagggtgt ccagtgtcag 60  
 gtgcagctgg tggagctctg gggaggcggtg gtccagcctg ggaggctcct gagactctcc 120  
 tgtgtagcct ctggattcac cttcagtaac tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180  
 ggcaaggggc tggagtggtt ggcaattata tcatatgatg gaagtaataa atactatgca 240  
 gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatgtg 300  
 caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag acgcggtcac 360  
 tacgggaggg attactactc ctactacggt ttggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 420  
 accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg 480  
 agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaaccg 540  
 gtgacgggtg cgtggaactc aggcgtctct accagcgcg tgcacacctt cccagctgtc 600  
 ctacagtccct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcaacttc 660  
 ggcacccaga cctacacctg caacgtatag cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 720  
 acagttgagc gcaaatgttg tgtcagtgcc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga 780  
 ccgtcagctc tctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc cgggaccctc 840  
 gaggtcacgt gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ccgagggtcca gttcaactgg 900  
 tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcaac 960  
 agcacgttcc gtgtgggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag 1020  
 gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080  
 aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc cggggaggag 1140  
 atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctacc cagcgacatc 1200  
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg 1260  
 ctggactccg acggtctcct ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320  
 cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1380  
 cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1413

<210> 62  
 <211> 470  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 62  
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly  
 1 5 10 15  
 Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln  
 20 25 30  
 Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
 35 40 45  
 Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Val Ala Ile Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala  
 65 70 75 80  
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn  
 85 90 95  
 Thr Leu Tyr Val Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val  
 100 105 110

237

**84539**

238

Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Arg	Gly	His	Tyr	Gly	Arg	Asp	Tyr	Tyr	Ser	Tyr
		115					120					125			
Tyr	Gly	Leu	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser
	130					135					140				
Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
145					150					155					160
Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
				165					170					175	
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			180					185					190		
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
		195					200					205			
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr
	210					215					220				
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
225					230					235					240
Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
				245					250					255	
Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp
			260					265					270		
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp
		275					280					285			
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly
	290					295					300				
Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn
305					310					315					320
Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp
				325					330					335	
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro
			340					345					350		
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu
		355					360					365			
Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn
		370				375					380				
Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile
385					390					395					400
Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr
				405					410					415	

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
465 470

<210> 63  
<211> 720  
<212> ДНК  
<213> Homo sapiens

<400> 63  
atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctgg atccagtgagg 60  
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 120  
atctcctgca ggtctagta gagectcctg cctgggtatg gatacaacta tttggattgg 180  
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcggggc 240  
tccggggctcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 300  
agcagagtgg aggtcgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaaactct 360  
cggacgttcg gccaagggac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420  
ttcatcttcc cggcatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctatgt tgtgtgcctg 480  
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa 540  
tcgggttaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600  
agcagcaccy tgacgctgag caagcagac tacgagaaac acaagctca cgcttggcaa 660  
gtcaccatc agggcctgag ctgcccgta acaagagct tcaacagggg agagtgttaa 720

<210> 64  
<211> 239  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (156)  
<223> Варіабельна амінокислота

<400> 64  
Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15  
Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro  
20 25 30  
Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
35 40 45  
Leu Leu Pro Gly Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys  
50 55 60  
Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala  
65 70 75 80

241

84539

242

Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	
				85					90					95		
Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	
				100					105					110		
Cys	Met	Gln	Ala	Leu	Gln	Thr	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	
				115					120					125		
Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	
				130					135					140		
Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Xaa	Val	Val	Cys	Leu	
				145					150					155		
Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	
				165					170					175		
Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	
				180					185					190		
Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	
				195					200					205		
Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	
				210					215					220		
Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys		
				225					230					235		

```
<210> 65
<211> 364
<212> ДНК
<213> Homo sapiens
```

<400>	65						
cagggtgcagc	tgcaggagtc	gggccccagga	ctgggtgaagc	cttcggacac	cctgtccctc	60	
acctgcactg	tctctgggtg	ctccatcaga	gggtactact	ggagctggat	ccggcagocc	120	
cctgggaagg	gactggagtg	gattgggtat	atctattaca	gtgggagcac	caactacaac	180	
ccctccctca	agagtcgagt	caccatatca	gtagacacgt	ccaagaacca	gttctccctg	240	
aagctgaact	ctgtgaccgc	tgccgacacg	gccgtgtatt	attgtgcgag	aaaggggggc	300	
ctctacggtg	actacggctg	gttcgcccc	tggggccagg	gaaccctggg	caccgtctcc	360	
tcag						364	

```
<210> 66
<211> 121
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

<400> 66  
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Asp  
1 5 10 15  
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Gly Tyr  
20 25 30

243

**84539**

244

Tyr	Trp	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	
		35					40				45				
Gly	Tyr	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys
	50					55					60				
Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu
	65				70					75					80
Lys	Leu	Asn	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala
				85					90					95	
Arg	Lys	Gly	Gly	Leu	Tyr	Gly	Asp	Tyr	Gly	Trp	Phe	Ala	Pro	Trp	Gly
			100					105					110		
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser							
		115					120								

```
<210> 67
<211> 322
<212> ДНК
<213> Homo sapiens
```

```
<400> 67
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgttagc agcagcgact tagcctggca ccagcagaaa 120
cctggccagg ctccagact cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
ctgaagatt ttgcatgtg ttaactgtcag cactgtcgta gcttattcac ttctggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa ac                                     322
```

```
<210> 68
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

```

<400> 68
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1             5             10             15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20             25             30
Asp Leu Ala Trp His Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35             40             45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50             55             60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65             70             75             80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Cys Arg Ser Leu Phe
 85             90             95

```

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
100 105

<210> 69  
<211> 1401  
<212> ДНК  
<213> Homo sapiens

<400> 69  
atgaaacatc tgtggttctt ccttctcctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60  
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cggagaccct gtccctcacc 120  
tgcaactgtc ctggtggctc catcagaggt tactactgga gctggatccg gcagccccct 180  
gggaagggac tggagtggat tgggtatata tattacagtg ggagcaccaa ctacaacccc 240  
tcctcaaga gtcgagtcac catatcagta gacacgtcca agaaccagtt ctccctgaag 300  
ctgaactctg tgaccgctgc ggacacggcc gtgtattatt gtgcgagaaa ggggggcttc 360  
tacggtgact acggctggtt cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cactccgag 420  
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cactccgag 480  
agcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggg gacggtgtcg 540  
tggaaactcag gcgtctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtccctca 600  
ggactctact cctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaactccgg caccagacc 660  
tacacctgca acgtagatca caagccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 720  
aaatgttgtg tcgagtgcc accgtgccc gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 780  
ctcttcccco caaaacccaa ggacacctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc 840  
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 900  
gtggagggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacttccgt 960  
gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 1020  
aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg 1080  
cagccccgag aaccacaggt gtacacctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140  
caggtcagcc tgacctgctt ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200  
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 1260  
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320  
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380  
tcctgtctc cgggtaaatg a 1401

<210> 70  
<211> 466  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 70  
Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15  
Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys  
20 25 30  
Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile  
35 40 45  
Arg Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
50 55 60  
Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro  
65 70 75 80

248

Ser	Leu	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln
				85				90				95			
Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Asn	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
				100				105				110			
Tyr	Cys	Ala	Arg	Lys	Gly	Gly	Leu	Tyr	Gly	Asp	Tyr	Gly	Trp	Phe	Ala
				115				120				125			
Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
				130				135				140			
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu
				145				150				155			
Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
				165				170				175			
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr
				180				185				190			
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val
				195				200				205			
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn
				210				215				220			
Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg
				225				230				235			
Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly
				245				250				255			
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
				260				265				270			
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
				275				280				285			
Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
				290				295				300			
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg
				305				310				315			
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
				325				330				335			
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu
				340				345				350			
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr
				355				360				365			
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
				370				375				380			



249

84539

250

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met  
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
450 455 460

Gly Lys  
465

&lt;210&gt; 71

&lt;211&gt; 705

&lt;212&gt; DHK

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 71

```

atggaaaccc cagcgcagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga atccaccgga 60
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc agcagcgact tagcctggca ccagcagaaa 180
cctggccagg ctcccagact cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatcca 240
gacaggttca gtggcagtg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 300
cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cactgtcgta gcttattcac ttccggccct 360
gggaccaaag tggatatcaa acgaactgtg gctgcaecat ctgtcttcat ctcccggca 420
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gctgtgtgaa taacttctat 480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 705

```

&lt;210&gt; 72

&lt;211&gt; 234

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 72

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro  
1 5 10 15

Glu Ser Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser  
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser  
35 40 45

Val Ser Ser Ser Asp Leu Ala Trp His Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala  
50 55 60

251

84539

252

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro  
 65 70 75 80  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile  
 85 90 95  
 Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Cys  
 100 105 110  
 Arg Ser Leu Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg  
 115 120 125  
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140  
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160  
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 195 200 205  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 210 215 220  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

&lt;210&gt; 73

&lt;211&gt; 376

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 73

cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatgccca tgcactgggt ccgccagggt 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tacagagaca attccaagaa cagcgtgtat 240  
 ctgcaaataa acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacgcggt 300  
 cactacggga ataattacta ctctatttac gggttggacg tctggggcca agggaccacg 360  
 gtcaccgtct cctcag 376

&lt;210&gt; 74

&lt;211&gt; 125

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 74

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15

253

84539

254

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
                   20                  25                  30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
           35                  40                  45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
       50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Tyr Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
   65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                  90                  95

Ala Arg Arg Gly His Tyr Gly Asn Asn Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu  
          100                 105                 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
      115                 120                 125

&lt;210&gt; 75

&lt;211&gt; 337

&lt;212&gt; PPK

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 75

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgctca cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg cctggtaatg gatacaacta ttggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct attgggttc taatcgggcc 180  
 tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggctcaggca cagattttac actgaaaatc 240  
 agcagagtgg aggctgagga tggtgggatt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300  
 cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaac 337

&lt;210&gt; 76

&lt;211&gt; 112

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 76

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
   1                  5                  10                  15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Pro Gly  
          20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
      35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
      50                  55                  60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
   65                  70                  75                  80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 77

<211> 1413

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 77

```

atggagtttg ggctgagctg ggttttctctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60
gtgcaactgg tggagtcctg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagc tatgccatgc actgggtccg ccaggctcca 180
ggcaagggggc tggagtgggt ggcagttata tcatatgatg gaagtaataa atactatgca 240
gactccgtga agggccgatt caccatctac agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtgtatt actgtgagag acgcggtcac 360
tacgggaata attactactc ctattacggg ttggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 420
accgtctctc cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg 480
agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgctgtgtca aggactactt ccccgaaacc 540
gtgacgggtg cgtggaactc aggcgtctcg accagcggcg tgcacacctt cccagctgtc 600
ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcaacttc 660
ggcaccacaga cctacacctg caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 720
acagttgagc gcaaatgttg tgtcgagtgc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga 780
ccgtcagtc tctctctccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc cgggacccct 840
gaggtcacgt gcgtgggtgg ggcagtgagc cagcaagacc ccgaggtcca gttcaactgg 900
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc caggggagga gcagttcaac 960
agcacgttcc gtgtggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactgggt gaacggcaag 1020
gagtacaagt gcaagggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccacgcagaa aaccatctcc 1080
aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc cgggagagg 1140
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc 1200
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagcgc gagaacaact acaagaccac acctcccatc 1260
ctggactccg accggtcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320
cagcagggga acgtctctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1380
cagaagagcc tctcctgtc tccgggtaaa tga 1413

```

<210> 78

<211> 470

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln  
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
35 40 45

Ser Ser Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu  
50 55 60

Glu	Trp	Val	Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	65	70	75	80
Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Tyr	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	85	90	95	
Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	100	105	110	
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Arg	Gly	His	Tyr	Gly	Asn	Asn	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	115	120	125	
Tyr	Gly	Leu	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	130	135	140	
Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	145	150	155	160
Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	165	170	175	
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	180	185	190	
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	195	200	205	
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	210	215	220	
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	225	230	235	240
Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	245	250	255	
Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	260	265	270	
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	275	280	285	
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	290	295	300	
Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	305	310	315	320
Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	325	330	335	
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	340	345	350	
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	355	360	365	

259

84539

260

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn  
370 375 380

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
405 410 415

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
465 470

&lt;210&gt; 79

&lt;211&gt; 720

&lt;212&gt; DHK

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 79

atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct ggggtctctgg atccagtggg 60  
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 120  
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg cctgggtaatg gatacaacta ttgggattgg 180  
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctccctgatct atttgggttc taatcggggc 240  
tccggggctcc ctgacagggt cagtggcagt ggctcaggca cagattttac actgaaaatc 300  
agcagagtgg aggctgagga tgttgggatt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 360  
cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420  
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgctg 480  
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gttcagtgga ggggtggataa cgccctccaa 540  
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600  
agcagcaccg tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa 660  
gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

&lt;210&gt; 80

&lt;211&gt; 239

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 80

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro  
20 25 30

Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
35 40 45

Leu Leu Pro Gly Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys  
 50 55 60  
 Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala  
 65 70 75 80  
 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 85 90 95  
 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr  
 100 105 110  
 Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys  
 115 120 125  
 Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro  
 130 135 140  
 Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Arg Val Asp  
 165 170 175  
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
 180 185 190  
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys  
 195 200 205  
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln  
 210 215 220  
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230 235

&lt;210&gt; 81

&lt;211&gt; 364

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 81

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcaga gggtactact ggagctggat ccggcagccc 120  
 ccaggggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagcac caactacaac 180  
 cctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240  
 aagctgagtt ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgag aagggggggc 300  
 ctctacgggtg actacggctg gttcgcccc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360  
 tcag 364

&lt;210&gt; 82

&lt;211&gt; 121

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

263

84539

264

&lt;400&gt; 82

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Gly Tyr  
 20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95

Arg Arg Gly Gly Leu Tyr Gly Asp Tyr Gly Trp Phe Ala Pro Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

&lt;210&gt; 83

&lt;211&gt; 322

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 83

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtca gagtgtagc agcacctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
 gacagggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatagta gcttattcac ttccggccct 300  
 gggaccaaaag tggatatcaa ac 322

&lt;210&gt; 84

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 84

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Thr  
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60



Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Leu Phe  
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
100 105

<210> 85

<211> 1401

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 85

```
atgaaacatc tgtggttctt ccttctctctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cggagaccct gtccctcacc 120
tgcactgtct ctggttggtc catcagaggt tactactgga gctggatccg gcagccccc 180
gggaaggagac tggagtggat tgggtatatac tattacagtg ggagcaccaa ctacaacccc 240
tccctcaaga gtcgagtcac catatcagta gacacgtcca agaaocagtt ctccctgaag 300
ctgagttctg tgaccgtctc ggacacggcc gtgtattact gtgcgagaag ggggggctc 360
tacggtgact acggtctggt cgccccctgg ggccaggga ccttggtcac cgtctctca 420
gcctccacca' agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 480
agcacagcgg ccctgggtcg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggg gacggtgtcg 540
tggaactcag gcgctctgac cagcggcggt cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca 600
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg caccagacc 660
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 720
aaatgttggt tcgagtgcct accgtgcccc gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 780
ctcttcccc caaaacccaa ggacacctc atgatctccc ggacctga ggtcacgtgc 840
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 900
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 960
gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 1020
aaggtctcca acaaaggcct cccagcccc atcgagaaaa ccatctccaa aaccaaaggg 1080
cagccccgag aaccacaggt gtacacctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctaccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380
tcctgtctc cgggtaaatg a 1401
```

<210> 86

<211> 466

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys  
20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile  
35 40 45

Arg Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
 85 90 95  
 Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110  
 Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Gly Leu Tyr Gly Asp Tyr Gly Trp Phe Ala  
 115 120 125  
 Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys  
 130 135 140  
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu  
 145 150 155 160  
 Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro  
 165 170 175  
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr  
 180 185 190  
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val  
 195 200 205  
 Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn  
 210 215 220  
 Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg  
 225 230 235 240  
 Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly  
 245 250 255  
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 260 265 270  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
 275 280 285  
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 290 295 300  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg  
 305 310 315 320  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 325 330 335  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 340 345 350

269

84539

270

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met  
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
450 455 460

Gly Lys  
465

<210> 87

<211> 705

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 87

atggaaaccc cagcgagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60  
gaaatttgtg tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120  
ctctcctgca gggccagtca gagggttagc agcacctact tagcctggta ccagcagaaa 180  
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 240  
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttactc tcaccatcag cagactggag 300  
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatagta gcttattcac ttccggccct 360  
gggaccaaag tggatatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat ctcccgccca 420  
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480  
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540  
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600  
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660  
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 705

<210> 88

<211> 234

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro  
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser  
20 25 30

271

84539

272

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser  
 35 40 45  
 Val Ser Ser Thr Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala  
 50 55 60  
 Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro  
 65 70 75 80  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile  
 85 90 95  
 Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr  
 100 105 110  
 Ser Ser Leu Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg  
 115 120 125  
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140  
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160  
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 195 200 205  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 210 215 220  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

&lt;210&gt; 89

&lt;211&gt; 378

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 89

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcaaagg atggaggtaa taaataccat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa tacgctgtat 240  
 ctgcaaatga atagcctgag agttgaagac acggctgtgt attactgtgt gagaagaggg 300  
 catcagctgg ttctgggata ctactactac aacggtctgg acgtctgggg ccaagggacc 360  
 acggtcaccg tctcctca 378

&lt;210&gt; 90

&lt;211&gt; 126

273

84539

274

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 90

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ala Val Ile Ser Lys Asp Gly Gly Asn Lys Tyr His Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Val Arg Arg Gly His Gln Leu Val Leu Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Gly  
 100 105 110

Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

&lt;210&gt; 91

&lt;211&gt; 378

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 91

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcaaagg atggaggtaa taaataccat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa tacgctgtat 240  
 ctgcaaatga atagcctgag agctgaagac acggctgtgt attactgtgc gagaagaggg 300  
 catcagctgg ttctgggata ctactactac aacgggtctgg acgtctgggg ccaaggggacc 360  
 acggtcaccg tctcctca 378

&lt;210&gt; 92

&lt;211&gt; 126

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 92

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ala Val Ile Ser Lys Asp Gly Gly Asn Lys Tyr His Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Arg Gly His Gln Leu Val Leu Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Gly  
 100 105 110

Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 93  
 <211> 336  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 93  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctcctgca ggtctagtca gagcctcttg tatagtaatg gatacaactt tttggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180  
 tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240  
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300  
 cggacgttcg gccaaaggac caagggtgaa atcaaa 336

<210> 94  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 94  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95

Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 95  
 <211> 373  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 95  
 caggtgcaac tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt cgctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatctg atggaggtaa taaatactat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtac gagaagaggg 300  
 actggaaaga cttactacca ctacgccggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360  
 accgtctcct cag 373

<210> 96  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 96  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Ile Ser Ser Asp Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Thr Arg Arg Gly Thr Gly Lys Thr Tyr Tyr His Tyr Ala Gly Met Asp  
 100 105 110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 97  
 <211> 364  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 97  
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcaga ggttactact ggagctggat ccggcagccc 120  
 cctgggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagcac caactacaac 180  
 ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240  
 aagctgaact ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt attgtgagag aaaggggggc 300

ctctacgggtg actacggctg gttcgcccc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360  
tcag 364

<210> 98

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Gly Tyr  
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
65 70 75 80

Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

Arg Lys Gly Gly Leu Tyr Gly Asp Tyr Gly Trp Phe Ala Pro Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 99

<211> 322

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 99

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagcgact tagcctggca ccagcagaaa 120  
cctggccagg ctcccagact cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
gacagggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagcccgtg gcttattcac tttcggccct 300  
gggaccaaag tggatatcaa ac 322

<210> 100

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 100

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15



Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
                   20                  25                  30

Asp Leu Ala Trp His Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
                   35                  40                  45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
                   50                  55                  60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
                   65                  70                  75                  80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ala Arg Ser Leu Phe  
                   85                  90                  95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
                   100                  105

<210> 101  
 <211> 720  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 101  
 atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctg atccagtggg 60  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 120  
 atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg cctgggtaatg gatacaacta tttggattgg 180  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctctgatct atttgggttc taatcggggc 240  
 tccggggctcc ctgacagggtt cagtggcagt ggctcaggca cagattttac actgaaaatc 300  
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggatt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 360  
 cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420  
 ttcattcttc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480  
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gttcagtggg aggtggataa cgccctccaa 540  
 tcgggtaact ccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600  
 agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660  
 gtcacccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 102  
 <211> 239  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 102  
 Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser  
           1                  5                  10                  15

Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro  
                   20                  25                  30

Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
                   35                  40                  45

Leu Leu Pro Gly Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys  
                   50                  55                  60

283

84539

284

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala  
 65 70 75 80  
 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 85 90 95  
 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr  
 100 105 110  
 Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys  
 115 120 125  
 Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro  
 130 135 140  
 Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp  
 165 170 175  
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
 180 185 190  
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys  
 195 200 205  
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln  
 210 215 220  
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230 235

&lt;210&gt; 103

&lt;211&gt; 112

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 103

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95

Leu Gln Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 104

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
 20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95

Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 105

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 105

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp  
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 106  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 106  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Gly His Gln Leu Leu Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp  
 100 105 110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 107  
 <211> 125  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 107  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

289

84539

290

Ala Arg Met Gly Ser Ser Gly Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met  
100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

&lt;210&gt; 108

&lt;211&gt; 120

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 108

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr  
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Arg Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
50 55 60

Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

Arg Tyr Cys Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln  
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

&lt;210&gt; 109

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 109

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr  
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
65 70 75 80

291

84539

292

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Gly Asn Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

&lt;210&gt; 110

&lt;211&gt; 122

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 110

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr  
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp  
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

&lt;210&gt; 111

&lt;211&gt; 112

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 111

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95  
 Leu Gln Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 112  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 112  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95  
 Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
 100 105 110

<210> 113  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 113  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

295

84539

296

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro  
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
100 105

&lt;210&gt; 114

&lt;211&gt; 122

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 114

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Tyr Cys Gly Gly Asp Cys Tyr Gly Ile Ala Val Ala Gly Trp  
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

&lt;210&gt; 115

&lt;211&gt; 123

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 115

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45



297

84539

298

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Gly Thr Thr Gly Thr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

&lt;210&gt; 116

&lt;211&gt; 123

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 116

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

&lt;210&gt; 117

&lt;211&gt; 123

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 117

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 118

<211> 23

<212> ДНК

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> Опис синтетичної послідовності: Праймер

<220>

<221> модифікована основа

<222> {21}

<223> i

<400> 118

cagggtgcagc tggagcagtc ngg

23

<210> 119

<211> 24

<212> ДНК

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> Опис синтетичної послідовності: Праймер

<400> 119

gctgagggag tagagtcctg agga

24

<210> 120

<211> 49

<212> ДНК

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> Опис синтетичної послідовності: Праймер

<400> 120  
tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg 49

<210> 121  
<211> 49  
<212> ДНК  
<213> Синтетична послідовність

<220>  
<223> Опис синтетичної послідовності: Праймер

<400> 121  
tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg 49

<210> 122  
<211> 51  
<212> ДНК  
<213> Синтетична послідовність

<220>  
<223> Опис синтетичної послідовності: Праймер

<400> 122  
tatctaagct tctagactcg agcgccacca tgaaacacct gtggttcttc c 51

<210> 123  
<211> 51  
<212> ДНК  
<213> Синтетична послідовність

<220>  
<223> Опис синтетичної послідовності: Праймер

<400> 123  
tatctaagct tctagactcg agcgccacca tgaaacatct gtggttcttc c 51

<210> 124  
<211> 51  
<212> ДНК  
<213> Синтетична послідовність

<220>  
<223> Опис синтетичної послідовності: Праймер

<400> 124  
tatctaagct tctagactcg agcgccacca tggactggac ctggaggatc c 51

<210> 125  
<211> 44  
<212> ДНК  
<213> Синтетична послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Опис синтетичної послідовності: Праймер

&lt;400&gt; 125

ttctctgac agaattccta tcatttaccc ggagacaggg agag

44

&lt;210&gt; 126

&lt;211&gt; 41

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Синтетична послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Опис синтетичної послідовності: Праймер

&lt;400&gt; 126

cttcaagctt acccgggcca ccatgagggt ccctgctcag c

41

&lt;210&gt; 127

&lt;211&gt; 43

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Синтетична послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Опис синтетичної послідовності: Праймер

&lt;400&gt; 127

ttctttgac agaattctca ctaacactct ccctgttga agc

43

&lt;210&gt; 128

&lt;211&gt; 49

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Синтетична послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Опис синтетичної послідовності: Праймер

&lt;400&gt; 128

tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg

49

&lt;210&gt; 129

&lt;211&gt; 49

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Синтетична послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Опис синтетичної послідовності: Праймер

&lt;400&gt; 129

tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg

49

&lt;210&gt; 130

&lt;211&gt; 49

<212> ДНК

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> Опис синтетичної послідовності: Праймер

<400> 130

tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg

49

<210> 131

<211> 51

<212> ДНК

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> Опис синтетичної послідовності: Праймер

<400> 131

tatctaagct tctagactcg agcgccacca tgaacatct gtggttcttc c

51

<210> 132

<211> 49

<212> ДНК

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> Опис синтетичної послідовності: Праймер

<400> 132

tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg

49

<210> 133

<211> 51

<212> ДНК

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> Опис синтетичної послідовності: Праймер

<400> 133

tatctaagct tctagactcg agcgccacca tgaacatct gtggttcttc c

51

<210> 134

<211> 45

<212> ДНК

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> Опис синтетичної послідовності: Праймер

<400> 134

tcttcaagct tgcccgggcc cgccaccatg gaaacccag cgcag

45

&lt;210&gt; 135

&lt;211&gt; 36

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Синтетична послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Опис синтетичної послідовності: Праймер

&lt;400&gt; 135

gcaagcttca ccaatggttc gtetgectct gcagtg

36

&lt;210&gt; 136

&lt;211&gt; 43

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Синтетична послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Опис синтетичної послідовності: Праймер

&lt;400&gt; 136

tcagtgatgg tgatggtgat gtctcagccg atcctgggga cca

43

&lt;210&gt; 137

&lt;211&gt; 43

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Синтетична послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Опис синтетичної послідовності: Праймер

&lt;400&gt; 137

tcagtgatgg tgatggtgat gtgggcaggg ctgcgatgg tat

43

&lt;210&gt; 138

&lt;211&gt; 43

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Синтетична послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Опис синтетичної послідовності: Праймер

&lt;400&gt; 138

tcagtgatgg tgatggtgat gacaggtgca gatggtgtct gtt

43

&lt;210&gt; 139

&lt;211&gt; 197

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 139

Met Val Arg Leu Pro Leu Gln Cys Val Leu Trp Gly Cys Leu Leu Thr  
1 5 10 15

309

84539

310

Ala Val His Pro Glu Pro Pro Thr Ala Cys Arg Glu Lys Gln Tyr Leu  
                   20                                  25                                  30  
 Ile Asn Ser Gln Cys Cys Ser Leu Cys Gln Pro Gly Gln Lys Leu Val  
                   35                                  40                                  45  
 Ser Asp Cys Thr Glu Phe Thr Glu Thr Glu Cys Leu Pro Cys Gly Glu  
                   50                                  55                                  60  
 Ser Glu Phe Leu Asp Thr Trp Asn Arg Glu Thr His Cys His Gln His  
                   65                                  70                                  75                                  80  
 Lys Tyr Cys Asp Pro Asn Leu Gly Leu Arg Val Gln Gln Lys Gly Thr  
                                   85                                  90                                  95  
 Ser Glu Thr Asp Thr Ile Cys Thr Cys Glu Glu Gly Trp His Cys Thr  
                                   100                                  105                                  110  
 Ser Glu Ala Cys Glu Ser Cys Val Leu His Arg Ser Cys Ser Pro Gly  
                   115                                  120                                  125  
 Phe Gly Val Lys Gln Ile Ala Thr Gly Val Ser Asp Thr Ile Cys Glu  
                   130                                  135                                  140  
 Pro Cys Pro Val Gly Phe Phe Ser Asn Val Ser Ser Ala Phe Glu Lys  
                   145                                  150                                  155                                  160  
 Cys His Pro Trp Thr Ser Cys Glu Thr Lys Asp Leu Val Val Gln Gln  
                                   165                                  170                                  175  
 Ala Gly Thr Asn Lys Thr Asp Val Val Cys Gly Pro Gln Asp Arg His  
                   180                                  185                                  190  
 His His His His His  
                   195

&lt;210&gt; 140

&lt;211&gt; 153

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 140

Met Val Arg Leu Pro Leu Gln Cys Val Leu Trp Gly Cys Leu Leu Thr  
           1                                  5                                  10                                  15  
 Ala Val His Pro Glu Pro Pro Thr Ala Cys Arg Glu Lys Gln Tyr Leu  
                   20                                  25                                  30  
 Ile Asn Ser Gln Cys Cys Ser Leu Cys Gln Pro Gly Gln Lys Leu Val  
                   35                                  40                                  45  
 Ser Asp Cys Thr Glu Phe Thr Glu Thr Glu Cys Leu Pro Cys Gly Glu  
                   50                                  55                                  60  
 Ser Glu Phe Leu Asp Thr Trp Asn Arg Glu Thr His Cys His Gln His  
                   65                                  70                                  75                                  80

Lys Tyr Cys Asp Pro Asn Leu Gly Leu Arg Val Gln Gln Lys Gly Thr  
                     85                    90                    95  
 Ser Glu Thr Asp Thr Ile Cys Thr Cys Glu Glu Gly Trp His Cys Thr  
                     100                    105                    110  
 Ser Glu Ala Cys Glu Ser Cys Val Leu His Arg Ser Cys Ser Pro Gly  
                     115                    120                    125  
 Phe Gly Val Lys Gln Ile Ala Thr Gly Val Ser Asp Thr Ile Cys Glu  
                     130                    135                    140  
 Pro Cys Pro His His His His His His  
 145                    150

<210> 141  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 141  
 Met Val Arg Leu Pro Leu Gln Cys Val Leu Trp Gly Cys Leu Leu Thr  
   1                    5                    10                    15  
 Ala Val His Pro Glu Pro Pro Thr Ala Cys Arg Glu Lys Gln Tyr Leu  
                     20                    25                    30  
 Ile Asn Ser Gln Cys Cys Ser Leu Cys Gln Pro Gly Gln Lys Leu Val  
                     35                    40                    45  
 Ser Asp Cys Thr Glu Phe Thr Glu Thr Glu Cys Leu Pro Cys Gly Glu  
                     50                    55                    60  
 Ser Glu Phe Leu Asp Thr Trp Asn Arg Glu Thr His Cys His Gln His  
                     65                    70                    75                    80  
 Lys Tyr Cys Asp Pro Asn Leu Gly Leu Arg Val Gln Gln Lys Gly Thr  
                     85                    90                    95  
 Ser Glu Thr Asp Thr Ile Cys Thr Cys His His His His His His  
                     100                    105                    110

<210> 142  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 142  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
   1                    5                    10                    15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr  
                     20                    25                    30  
 Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
                     35                    40                    45



Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60  
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
 65 70 75 80  
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95  
 Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 143

<211> 15

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> Опис синтетичної послідовності: Лінкерний пептид

<400> 143

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5 10 15

<210> 144

<211> 18

<212> ДНК

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> Опис синтетичної послідовності: Синтетичний олігонуклеотид

<400> 144

tttttttttt ttttttttt

18

<210> 145

<211> 6

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> Опис синтетичної послідовності: 6-His-мітка

<400> 145

His His His His His His  
 1 5

<210> 146

<211> 36

<212> ДНК

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> Опис синтетичної послідовності: Праймер

<400> 146

tgcaagcttc accatgggtgt ctttgcctcg gctgtg

36

<210> 147

<211> 48

<212> ДНК

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> Опис синтетичної послідовності: Праймер

<400> 147

gtcctcgagt cagtgatggg gatggatg tgggcagggg tgacagac

48